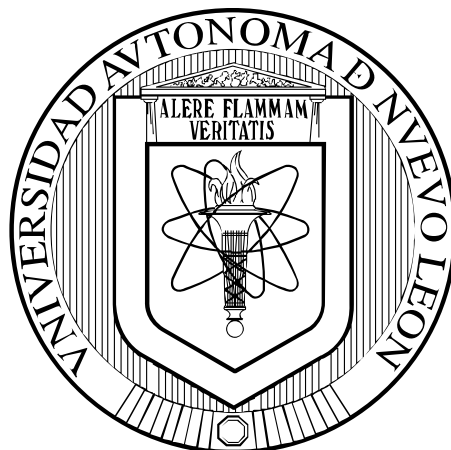


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



TESIS

**LESIONES MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS EN
PULMONES DE BOVINOS ENGORDADOS EN CORRAL QUE
AMERITAN DECOMISO EN RASTRO.**

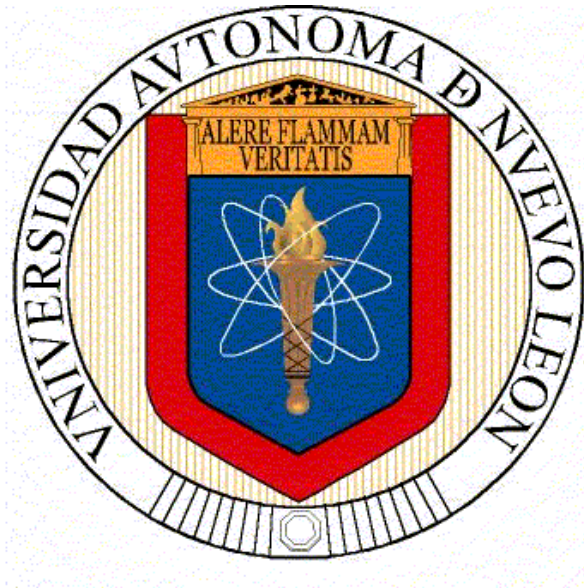
QUE PRESENTA

CECILIA RAMÍREZ HERNÁNDEZ

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO DE: MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL**

ABRIL 2015

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**LESIONES MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS EN
PULMONES DE BOVINOS ENGORDADOS EN CORRAL QUE
AMERITAN DECOMISO EN RASTRO.**

TESIS QUE PRESENTA

MVZ. CECILIA RAMÍREZ HERNÁNDEZ

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO DE: MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL**

ABRIL 2015


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA




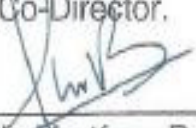
Lesiones Macroscópicas y Microscópicas en Pulmones de Bovinos Engordados
en Corral que Ameritan Decomiso en Rastro.

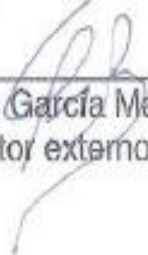
Aprobación de tesis por el comité particular de
MVZ. Cecilia Ramírez Hernández


PhD Rafael Ramírez Romero.
Director de Tesis.


PhD Gustavo Hernández Vidal.
Co-Director.


PhD Emilio Olivares Sáenz.
Co-Director.


PhD Julio Martínez Burnes.
Co-Director externo


Dr. Luis Jorge García Márquez
Co-Director externo.


PhD Alfonso López Mayagoitia.
Co-Director externo

DEDICATORIA

A Pablo.

A mi madre, María Dolores y a mi padre, Rafael.

A mis compañeros de vida y aula, Héctor, José Luis, Mirthala, Alejandra, Eliud, Verónica, Jorge, Benito, Nelson, Estela, Nidya, Alejandra F. y Miguel Ángel.

AGRADECIMIENTOS

A la FUNDACIÓN PRODUCE, Nuevo León, A.C. Proyecto 1349, 2013-2014.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

Al establecimiento TIF 356 y el personal que me permitió llevar a cabo este proyecto de investigación, dándome todas las facilidades: El C.P. Américo Chapa Martínez, Ing. Manuel Treviño Cantú, C. P. Manuel Almanza Mena, MVZ Juan Antonio Ballesteros Elizondo, MVZ Martín Barraza Pulido y a los operarios del establecimiento por su ayuda.

A PROMEP SEP proyecto Red de estudios sobre enfermedades en fauna silvestre y su papel como reservorios.

Al Dr. Rafael Ramírez Romero, por dejarme realizar y guiarme en este proyecto de investigación.

A mis co-directores de tesis los Doctores Luis Jorge García, Alfonso López, Emilio Olivares, Julio Martínez y Gustavo Hernández.

A mis maestros del Posgrado en Conjunto Agronomía-Veterinaria.

ABREVIATURAS

μm	Micrómetros
ABC	Transportadores de membrana dependientes de ATP (ATP-binding cassette)
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ADP	Aumento Diario de Peso
BALT	Tejido Linfoide Asociado a Bronquios /Bronquiolo
BVD	Virus de Diarrea Viral Bovina
CRB	Complejo Respiratorio Bovino
DBA	Diaminobencidina
H&E	Hematoxilina y Eosina
h.	Horas
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrógeno
IgA	Inmunoglobulina A
IgG	Inmunoglobulina G
IgM	Inmunoglobulina M
IHQ	Inmunohistoquímica
LI	Límite inferior
LOS	Lipooligosacáridos
LPPs	Lipoproteínas
LPS	Lipopolisacáridos
LS	Límite superior
Ltk	Leucotoxinas
MVRATIF	Médico Veterinario Responsable Autorizado en Establecimientos TIF
NOM-009-ZOO-1994	Norma Oficial Mexicana Zoosanitaria 009

NOM-031-ZOO-1995	Norma Oficial Mexicana Zoosanitaria 031
PBN	Pasteurelosis Neumónica Bovina
PBS	Tapón Fosfato Salino (phosphate buffered saline)
PI3	Virus de la Parainfluenza 3
PME	Proteínas de Membrana Externa
RIB	Rinotraqueítis Infecciosa Bovina
RNS	Especies Reactivas de Nitrógeno (Reactive Nitrogen Species)
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno (Reactive Oxygen Species)
SIM	Sulfhídrico , Indol y Motilidad
TEM	Meningoencefalitis Tromboembólica
TIF	Tipo Inspección Federal
TNF- α	Factor de Necrosis Tumoral- α
VRS	Virus Respiratorio Sincitial
VspF	Proteínas Variable de Superficie F
Vsps	Proteínas Variables de Superficie

ÍNDICE DE CONTENIDO

Dedicatoria	i
Agradecimientos	ii
Abreviaturas	iii
Índice de Contenido	iv
Índice de Figuras	v
Índice de Tablas	vi

ÍNDICE DE FIGURAS

No. de Figura	Página
Figura 1	33
Figura 2	34
Figura 3	34
Figura 4	35
Figura 5	35
Figura 6	36
Figura 7	36
Figura 8	37
Figura 9	38
Figura 11	39
Figura 12	40
Figura 13	40
Figura 14	41
Figura 15	42
Figura 16	42
Figura 17	43
Figura 18	43
Figura 19	44
Figura 20	45

ÍNDICE DE TABLAS

No. de tabla	Página
Tabla 1	10
Tabla 2	27
Tabla 3	29
Tabla 4	29
Tabla 5	31 y 32

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivo	3
1.2 Objetivos Particulares	3
1.3 Hipótesis.....	4
1.4 Justificación	4
2. LITERATURA REVISADA.....	5
2.1 Mecanismos de defensa del tracto respiratorio	5
2.2 Complejo Respiratorio Bovino (CRB).....	6
2.3 Neumonías Agudas vs Neumonías Crónicas.	8
2.4 Micoplasmas.....	8
Mycoplasma bovis.....	11
2.5 Patogenia de M. bovis	12
2.6 Respuesta Inmune versus Mycoplasma bovis.....	14
2.7 Familia Pasteurellaceae.....	17
2.8 Mannheimia haemolytica	17
2.9 Histophilus somni	19
2.10 Pasteurella multocida.....	19
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
3.1 Lugar donde se llevó a cabo la recolección de muestras.....	20
3.2 Metodología de la clasificación de muestras	21
3.3 Transporte y fijación de las muestras	21
3.4 Procedimiento histopatológico	22
3.5 Procedimiento de Inmunohistoquímica.....	23
3.6 Bacteriología.....	24
3.7 Estimación porcentual de los criterios del MVRATIF	25

4. RESULTADOS.	26
4.1 Caracterización macroscópica de las lesiones pulmonares y sus porcentajes	26
4.2 La estimación porcentual por intervalos de confianza para los criterios de decomiso del MRVATIF	28
4.3 Concordancia ente pruebas diagnósticas H & E e IQH	28
4.4 Aislamiento bacteriológico de las lesiones con bronconeumonía y traqueobronquitis que presenten exudado	29
4.5 Descripción macroscópica y miscroscópica de las lesiones pulmonares y demostración de M. bovis y VRS mediante Inmunohistoquímica	31
5. DISCUSIÓN.	45
6. Conclusiones	50
7. REFERENCIAS.	52

Lesiones Macroscópicas y Microscópicas en Pulmones de Bovinos Engordados en Corral que Ameritan Decomiso en Rastro.

1. INTRODUCCIÓN.

Las neumonías del Complejo Respiratorio Bovino (CRB) son el problema de mayor relevancia en el sistema de engorda intensiva en corral. El problema se considera multifactorial (hacinamiento, transporte, destete, mezcla de animales entre otros) lo que inicia una respuesta de estrés en el animal. Esta condición interfiere con el funcionamiento óptimo de los mecanismos de defensa y, en consecuencia, ocurre una diseminación de infecciones virales (Rinotraqueítis Infecciosa Bovina [RIB], Diarrea Viral Bovina [DVB], Virus Respiratorio Sincitial [VRS] y Parainfluenza 3 [PI3]) y la subsecuente infección oportunista del tracto respiratorio inferior (bronquiolos y alveolos) por bacterias como *Mannheimia haemolytica* (considerada la más importante) y otras como *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* y *Mycoplasma bovis* (también relevantes) (Arcangioli et al., 2008; Gabinaitiene et al., 2011; Taylor et al., 2010a, 2010b). El CRB, término que se ha acuñado para incluir estas lesiones neumónicas (bronconeumónicas) multifactoriales y multietiológicas en bovinos, se ha mantenido como el principal problema de salud en el sistema de engorda en corral a pesar del actual desarrollo tecnológico de vacunas y antibióticos desarrollados recientemente.

Más recientemente, se ha demostrado en México, Estados Unidos y Canadá que los casos crónicos de bronconeumonía que persisten, a pesar de la terapia con antibióticos, se deben a *Mycoplasma bovis*; una bacteria de difícil tratamiento y fácil diseminación en animales jóvenes. Además, también se determinó que en muchos casos la ineficacia de los tratamientos y la persistencia de las lesiones pulmonares por *Mycoplasma bovis* se debe a la infección subclínica del Virus de DVB que ejerce un efecto inmunodepresor, contribuyendo a la mayor severidad y cronicidad de los cuadros respiratorios (Ramírez-Romero, R. et al, 2010; Ramírez-Romero, R. et al., 2012).

Las secuelas de lesiones neumónicas acontecen hasta el sacrificio de los animales en rastro, e impactan en su eficiencia productiva y repercuten económicamente en el proceso y la calidad del producto (Taylor et al., 2010a). Aunque de manera habitual se acepta la necesidad de vacunación contra infecciones virales y eventualmente infecciones bacterianas durante la recepción del ganado en corral, los estudios en los que se demuestra categóricamente la participación viral y bacteriana en las lesiones apenas comienzan en México (Ramírez-Romero et al., 2010; Ramírez-Romero et al., 2012). Al respecto se ha demostrado la presencia in situ mediante inmunohistoquímica (procedimiento en el que se asocia, lesión específica con la presencia del antígeno del agente infeccioso) de los virus de PI3, VRS (Juárez Barranco et al., 1992) y DVB (Ramírez Romero et al., 2012) en bovinos con cuadros neumónicos en corral de engorda. No obstante, de acuerdo con la literatura consultada, no existen estudios en México en donde se establezca categóricamente, mediante inmunohistoquímica, la participación de los virus antes mencionados ni de *Mycoplasma bovis* en lesiones pulmonares decomisadas a nivel de rastro.

1.1 Objetivo

El objetivo del presente trabajo es caracterizar de manera macroscópica y microscópica a las lesiones pulmonares que causen decomisos de pulmones en el rastro, durante el sacrificio de bovinos engordados en corral con la intención de otorgarles una nomenclatura basada en anatomía patológica para darle más especificidad al diagnóstico sindrómico tradicional de neumonía.

1.2 Objetivos Particulares

- a) Caracterizar macroscópicamente las lesiones de pulmón
- b) Obtener porcentajes de los decomisos pulmonares
- c) Obtener la estimación porcentual por intervalos de confianza para los criterios de decomiso de las lesiones pulmonares del Médico Veterinario Responsable Autorizado de Establecimientos TIF
- d) Describir microscópicamente las lesiones
- e) Establecer correspondencia de lesiones descritas microscópicamente con lesiones macroscópicas
- f) Realizar aislamiento bacteriológico de las lesiones con bronconeumonía y traqueobronquitis que presenten exudado

- g) Demostrar la presencia de *M. bovis* en lesiones que corresponden microscópicamente con bronconeumonía crónica mediante IHQ
- h) Demostrar la presencia de VRS en las lesiones con bronconeumonía crónica que muestren evidencias histopatológicas sugestivas (células sincitiales)

1.3 Hipótesis

Las lesiones pulmonares que causan decomiso en rastro se encuentran asociadas a causas definidas.

1.4 Justificación

Se asume, de acuerdo a literatura específica, que algunos de los animales a los que se les reconoció clínicamente una manifestación respiratoria y que recibieron tratamiento en el corral pero que no se recuperaron completamente y tampoco murieron, transitaron hasta el final del proceso de engorda, acarreado: Bajos rendimientos, mala calidad en la canal, estancia más prolongada en la engorda y costos extras derivados de medicamentos y manejo.

En estos casos habrá evidencia en rastro reconociendo lesiones en los pulmones de estos animales. Sin embargo, las lesiones deberán ser caracterizadas mediante la clasificación de las lesiones neumónicas con base en anatomía patológica, debido a que hay diferentes tipos de neumonía que no necesariamente se incluyen en CRB. Al respecto solamente las

bronconeumonías (bronconeumoía supurativa y bronconeumonía fibrinosa) han mostrado correspondencia con base en su patogenia y serán solamente éstas las asociadas en el presente estudio. En el caso de que se reconozcan otros tipos de lesiones neumónicas se buscará establecer la patogenia correspondiente.

2. LITERATURA REVISADA

2.1 Mecanismos de defensa del tracto respiratorio

El hecho de que ocurra continuamente el intercambio gaseoso y flujo sanguíneo en los pulmones, requiere de un mecanismo de defensa muy especializado que mantenga este sistema fuera del alcance de colonización bacteriana. El proceso de inhalación es un riesgo constante ya que el aire posee microorganismos patógenos que entrarían directamente al tracto respiratorio y romper con la esterilidad con la que se debe mantener este sistema (Caswell & Williams, 2007). Hay tres mecanismos de defensa que responden de forma inmediata para proteger al tracto respiratorio:

- A. El moco, que atrapa partículas y microorganismos los cuales expulsa fuera del tracto respiratorio con la ayuda de los cilios epiteliales.
- B. Anticuerpos y Proteínas de defensa innatas, previenen la colonización de la mucosa, matando los microorganismos para que sean fácilmente fagocitados.

C. Macrófagos alveolares y neutrófilos (reclutados), los cuales fagocitan sin inducir inflamación.

Si estos mecanismos arriba mencionados no funcionan adecuadamente, tendrá que ocurrir una inflamación mediante la liberación de citocinas del endotelio vascular y macrófagos alveolares, para el reclutamiento de más macrófagos y de neutrófilos. Si esto llegara a ocurrir, podría haber consecuencias más dañinas que benéficas afectando el intercambio gaseoso, causando daño al tejido pulmonar por producción de enzimas leucocitarias y por los procesos de reparación descontrolados (Caswell & Williams, 2007; McGavin & Zachary, 2012).

2.2 Complejo Respiratorio Bovino (CRB)

El CRB es la enfermedad más estudiada debido a su presencia a nivel mundial y a que genera pérdidas económicas en la industria del ganado de engorda. Estas pérdidas económicas han llegado a registrarse hasta por 750 millones de dólares al año (Estados Unidos) implicando costos directos (baja ganancia de peso, estancias prolongadas en el corral de engorda, medicamentos, etc.) e indirectos (mala calidad en la canal, sueldos extras de veterinarios, etc.) (Schneider et al., 2009). Los signos clínicos aparecen a los pocos días de la llegada al corral de engorda, luego de factores estresantes tales como el destete, traslados prolongados, temperaturas ambientales frías y humedad, altas densidades poblacionales en corral, y sobre todo mezcla de animales de diferentes orígenes, además del propio manejo durante el proceso de recepción, etc. (Gabinaitiene et al 2011; Nicholas & Ayling, 2003; Radaelli et al., 2008; Radaelli et al., 2011; Schneider et al., 2010; Taylor et al., 2010a, 2010b).

Los signos clínicos que más frecuentes se observan en animales enfermos son temperatura elevada por encima de los 40°C, signos respiratorios (descarga nasal y ocular, tos, disnea, taquipnea, etc.) disminución de apetito, depresión, disminución en el aumento diario de peso (ADP) o la combinación de todos (Gabinaitiene et al., 2011; Schneider et al., 2009). En estudios realizados en corral de engorda hacen mención que la disminución de ADP es un signo que se debería de tomar en cuenta para el diagnóstico del CRB, la razón es que debido al hacinamiento que hay en corral de engorda no es posible observar los signos clínicos que se presentan durante la enfermedad o simplemente los animales no presentaron signos evidentes, sin embargo la disminución de ADP siempre está presente (Taylor et al., 2010a). No obstante, esperar una disminución notable en el consumo seguramente implica la presencia de alta morbilidad que ya involucra un riesgo inminente de elevada mortalidad. Por esta razón es útil tomar en cuenta varios indicadores que ayudan a tomar una decisión *a priori* y que seguramente disminuirá morbilidad y mortalidad (Ramírez-Romero & Ramírez-Hernández 2004).

Las causas del CRB son multifactoriales, y están relacionadas con el estrés (antes mencionadas), y la participación de agentes virales como el Virus Respiratorio Sincitial (VRS), Virus de la Parainfluenza-3 (PI3V), Diarrea Viral Bovina (DVB) y Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (RIB). Dichos agentes virales actúan como predisponentes a enfermedades bacterianas por dos vías; la primera es dañando directamente el parénquima pulmonar permitiendo el establecimiento de bacterias y la segunda vía; es afectando el funcionamiento adecuado del sistema inmune, por lo cual las bacterias actúan como oportunistas. Estos virus enumerados están asociados a infecciones bacterianas tales como *Mannheimia haemolytica*,

Pasteurella multocida, *Histophilus somni*, o las Mollicutes *Mycoplasma bovis* y *Mycoplasma dispar* (Arcangioli et al., 2008; Nicholas & Ayling, 2003; Radaelli et al, 2008; Taylor et al, 2010a, 2010b).

2.3 Neumonías Agudas vs Neumonías Crónicas.

Las lesiones neumónicas muestran consolidación en lóbulos craneoventrales. Microscópicamente se caracteriza por una neumonía bronquiolo-intersticial que rápidamente se transforma en una lesión exudativa alveolar de tipo fibrinosupurativa con extensas zonas de necrosis coagulativa en parénquima. Estas zonas necróticas se encuentran por lo general, limitadas por neutrófilos necróticos arremolinados (células de avena). Además, la respuesta inflamatoria se extiende causando pleuritis y trombosis linfática en septos interlobulillares. Aquí la bacteria relevante es *Mannheimia haemolytica*. Cuando la bacteria es *Histophilus somni*, la respuesta inflamatoria fibrinosupurativa es más exuberante en pleura y pericardio. En cambio, en cuadros neumónicos con un curso más largo, ocurre una franca bronconeumonía supurativa. La progresión subaguda a crónica muestra generalmente un patrón lobulillar con bronquiectasia. En estos casos las bacterias más frecuentemente aisladas son *Pasteurella multocida* y *Mycoplasma bovis*. En los casos crónicos de bronconeumonía supurativa la participación de *Mycoplasma bovis* es consistente (Ramirez-Romero et al., 2001).

2.4 Micoplasmas

El grupo *Mycoplasma* (clase Mollicutes) son los procariotas más pequeños capaces de reproducirse independientemente, sin embargo son muy difíciles de cultivar por lo que el aislamiento y el diagnóstico se dificultan. Son células que carecen de pared celular, con formas pleomórficas (se han visto como cocobacilos, forma de cocos, forma de anillos y espirales) y que aparentemente vienen de bacterias Gram positivas. Las formas cocoides, tienen un rango de diámetro de 0.2-0.3 μm , tienen muchos otros tamaños dependiendo de la forma (Carter & Wise, 2004). Al igual que los virus pueden traspasar fácilmente filtros de membrana con poros de 0.45 μm . El genoma de los micoplasmas es una molécula ADN de doble cadena circular. La mayoría de las especies de *Mycoplasma* utilizan glucosa o arginina como principal fuente de energía, pero raramente ambas al mismo tiempo (Schlegel & Zaborosch, 1997).

El hábitat principal de los micoplasmas animales son las membranas mucosas del tracto respiratorio y urogenital, se encuentran como parásitos inocuos. Son parásitos de las membranas (se fijan fuertemente a las células epiteliales de las serosas) (Pérez et al., 1990). Sin embargo; en estudios hechos en humanos enfermos con el virus de la inmunodeficiencia adquirida, se encontraron algunas especies de *Mycoplasma* en el citoplasma de los hepatocitos (Maeda et al., 2003).

Las infecciones por *Mycoplasma* por lo regular se dan como resultado de la diseminación bacteriana de los animales asintomáticos, sin embargo esto no quiere decir que se desarrolle la enfermedad o no (Citti & Blanchard, 2013) (Citti & Blanchard, 2013). Sobre el papel que juegan los micoplasmas en el CRB es el de crear un medio en el cual se pueda diseminar ya sea en el individuo o en el corral de engorda, sin embargo estos agentes infecciosos no causan

brotos por si solos sino que se encuentran asociados a más agentes infecciosos y virales (Maeda et al., 2003; Nicholas & Ayling, 2003; Ramirez-Romero et al., 2010; Radaelli et al., 2008; Radaelli et al., 2011). (Maeda et al., 2003; R. A. J. Nicholas & Ayling, 2003; R.A.J. Nicholas & Ayling, 2003 ; R. R. R. et al., 2010; Radaelli et al., 2011; Radaelli et al., 2008).

Los micoplasmas no excretan ninguna toxina, pero a través del contacto íntimo de las células sin pared y de las células del hospedador algunos productos metabólicos débilmente tóxicos (iones amonio y el peróxido de hidrógeno), actúan como tóxicos sobre las membranas del hospedador. El rango de hospedadores de la mayor parte de las especies está limitado a pocas especies animales (Scanlan, 1991).

Tabla 1. Mycoplasmas en bovinos

Bovino	Mycoplasma/Ureaplasma	Enfermedad
	<i>M. alkalescens</i>	Mastitis, artritis
	<i>M. bovis genitalium</i>	Mastitis, artritis
	<i>M. bovirhinis</i>	Mastitis
	<i>M. bovis</i>	Mastitis
	<i>M. bovoculi</i>	Queratoconjuntivitis
	<i>M. californicum</i>	Mastitis, artritis
	<i>M. canadense</i>	Mastitis
	<i>M. dispar</i>	Mastitis, artritis
	<i>M. mycoides subsp.</i>	Pleuroneumonía contagiosa
	<i>mycoides</i>	
	<i>U. diversum</i>	Bulvovaginitis, infertilidad y aborto

(Scanlan, 1991).

Mycoplasma bovis

Es un habitante común del tracto respiratorio en animales sanos, *M bovis* es conocido por causar mastitis y neumonías y al volverse sistémico también causa enfermedades como otitis y artritis (Vanden Bush & Rosenbusch, 2004). La infección causada por *M.bovis* está asociada con bronconeumonía y artritis. Este agente infeccioso genera costos extras por pérdidas económicas a nivel mundial, como por ejemplo en el Reino Unido, donde las enfermedades respiratorias causadas por esta bacteria ocupan desde un cuarto hasta un tercio en el total de pérdidas. Este tipo de micoplasma incrementa su severidad en las enfermedades respiratorias en el ganado bovino y también puede actuar como patógeno primario, ya que hay estudios en donde concluyen que *M. bovis* aparece al principio del CRB de manera muy similar a los virus (Arcangioli et al., 2008; Gabinaitiene et al., 2011).

Los animales infectados pueden alojar por meses en tracto respiratorio a esta bacteria y ser reservorios de la infección. En el ganado bovino, este agente infeccioso, puede no presentar/inducir signos clínicos y mantenerse en los tejidos además, llega a ser contagiado por contacto con secreciones de vías respiratorias, por inhalación, vía el canal del pezón, tracto genital o en la inseminación por semen contaminado (Nicholas & Ayling, 2003). Este patógeno provoca diferentes patrones de inflamación (en infecciones espontáneas o infecciones inducidas experimentalmente) ocasionando lesiones crónicas en los pulmones de los animales que padecieron la infección. Las infecciones de los bovinos causadas por esta bacteria por lo general de acompañan de la proliferación de tejido linfoide asociado a bronquios/bronquiolos (BALT). El hecho de que haya lesiones crónicas a causa de esta

bacteria y la persistencia de la de la misma, implica que el sistema inmune es ineficiente para eliminar este patógeno. Hasta ahora los mecanismos por los cuales hay daño en tejidos pulmonares no están cien por ciento comprendidos, así como también hay muy limitada información acerca de cuáles son las células envueltas en el respuesta inmune de los pulmones de animales infectados con *M. bovis* (Hermeyer et al, 2012).

2.5 Patogenia de *M. bovis*

La falta de pared celular en la membrana de la bacteria y la exposición de proteínas de membrana es el primer factor de riesgo al que se tiene que enfrentar las células del huésped. *M. bovis* se puede aislar de forma natural de glándula mamaria de hembras con mastitis, articulaciones, bolsas tendinosas, tejido periarticular de ganado con artritis, tenosinovitis, oído medio (ganado con otitis) y neumonía crónica. A la adhesión se le considera una capacidad crucial de esta bacteria para comenzar el período de infección. Las proteínas de membrana facilitan el anclaje de la bacteria a la superficie de las mucosas, aunque todavía no son del todo esclarecidas las formas de adhesión de la bacteria se cree que principalmente sea por receptores específicos (Maunsell et al., 2011).

Las adhesinas de *M. bovis* tienen efecto sobre los neutrófilos y linfocitos, resultando en la oxidación y degranulación de estas células. *M. bovis*, luego de su adhesión, genera productos de virulencia aparte de las adhesinas (Sachse et al., 1996); tales como fosfolipasas, la supresión de blastogénesis de linfocitos (Vanden Bush & Rosenbusch, 2004).

Hay varias adhesinas reconocidas en *M. bovis* como la proteína P26 y algunos miembros de la familia de lipoproteínas variables de la superficie (Vsps), de éstas últimas todavía no han sido bien identificadas, solo en experimentos de laboratorio se encontró que VspF fue la proteína más expresada a diferencia de otras (Thomas et al., 2003a; 2003b). A las lipoproteínas variables de superficie se les atribuye el principal mecanismo de evadir la respuesta inmune (Hermeyer et al., 2012), formación de biocapa y radicales superóxido todos estos dañan a la célula huésped, sin embargo todavía falta por entender la directa patogenicidad de estos productos (Rifatbegovic et al., 2009).

La forma en la que se da el contacto íntimo de la bacteria con la célula huésped es mediado por restos de ácido siálico y este contacto es necesario para que *Mycolasma bovis* obtenga nutrientes vitales que incluyen, factores de crecimiento, precursores de ácidos nucleicos (arginina para su respiración celular), que la bacteria no sería capaz de sintetizar por si sola (Carter & Wise, 2004; Sasaki et al., 1984). Además, *M. bovis* produce biocapa la cual puede ser definida como bacterias sésiles unidas a un sustrato, o entre sí, a menudo unidas por una matriz de polisacárido extracelular. La biocapa sirve para una mejor adhesión y para la evasión del sistema inmune, la fagocitosis y los antibióticos, además de proteger al patógeno del medio ambiente. Está comprobado (experimentalmente) que la biocapa de *M. bovis* se adhiere más que las de otros micoplasmas, le da a la bacteria una capacidad de resistencia al medio ambiente como la desecación y las altas temperaturas; estas capacidades de resistencia nos explican por qué *M. bovis* ha adquirido propiedades de resistencia a desinfectantes y a antibióticos. También la biocapa causa daño al huésped, ya que mientras los fagocitos son atraídos, la fagocitosis es interrumpida y se liberan las enzimas fagocíticas las cuales dañan al tejido adyacente exacerbando la infección (McAuliffe et al., 2006; Rifatbegovic et al., 2009).

El peróxido de hidrógeno (H₂O₂ o agua oxigenada) metabólico, posee la cualidad de crear una parálisis en cilios del tracto respiratorio facilitando el establecimiento de otros patógenos oportunistas (Ball & Nicholas, 2010). Otro de los mecanismos patógenos potenciales en donde *M. bovis* evade la respuesta inmune es inhibiendo la capacidad de mitosis linfoproliferativa, esto lo hace induciendo la muerte celular del linfocito, sin embargo esta muerte celular (apoptosis) es mediada por la producción de proteínas de la misma bacteria y no por la inducción de mecanismos apoptóticos como sucede con otros micoplasmas (Vanden Bush & Rosenbusch, 2004) (T. J. Vanden Bush & Rosenbusch, 2004).

El ejemplo más representativo de trabajo en conjunto con otros patógenos es la coinfección que causa con BVDV, mientras este virus mantiene al individuo inmunosuprimido, a la vez es susceptible de contraer problemas respiratorios (Radaelli et al., 2008; Maeda et al., 2003; Ramirez-Romero et al., 2012).

2.6 Respuesta Inmune versus *Mycoplasma bovis*

En un estudio en donde encontraron que además de los efectos directos de *Mycoplasma bovis*, hay algunos factores liberados por el tejido pulmonar del huésped los cuales están envueltos en el desarrollo necrosis en el tracto respiratorio. La presencia de antígenos de *M. bovis* y la sobreexpresión de óxido nítrico y nitrotirosina inducida por los macrófagos de las áreas del tejido perinecrótico, indican que la producción de óxido nítrico y peroxinitrito están potencialmente relacionados en el desarrollo de necrosis pulmonar. Las concentraciones crecientes de peroxinitrito induce la producción de oxígeno reactivo y especies de nitrógeno (ROS y RNS) los cuales son citotóxicos. Así pues, en ese estudio concluyeron que ROS y

RNS son los responsables de llevar a cabo la severa necrosis pulmonar que se desarrolla en infecciones por *M. bovis* (Hermeyer et al., 2012).

Aparte, se ha reportado que *M. bovis* tiene proteínas variables de superficie inmunodominantes (Vsps), las cuales son consideradas las mayormente responsables de la supervivencia de la bacteria. *M. bovis* posee 13 genes de *vsp* los que están implicados en la variación antigénica que alteran el carácter antigénico de los componentes en su superficie para mejorar la colonización y/o adhesión o evadir los sistemas de defensa inmunes del huésped además de adaptarse a los entornos especializados de su mismo huésped (Maunsell et al., 2011; Nicholas & Ayling, 2003; Thomas et al., 2003). Estos genes *vsp* operan bajo varios mecanismos, incluyendo transportación de DNA y recombinación intracromosomal dentro del locus de *vsp* (Nussbaum et al., 2002).

Las bacterias extracelulares pueden replicarse fuera de sus células huésped. Hay muchas especies de bacterias extracelulares patógenas y las enfermedades que producen se deben principalmente a dos mecanismos. El primero, que es la inflamación y da lugar a destrucción de tejido en el área de infección. El segundo que es la producción de toxinas (endotoxinas) que ejercen diferentes efectos patológicos en el huésped. La endotoxina de las bacterias gramnegativas, se denomina lipopolisacárido (LPS) y es un potente activador de macrófagos (Abbas et al., 2007). En el caso de *Mycoplasma bovis* posee lipoproteínas (LPPs) en su membrana, los cuales actúan de la misma forma en la que actúan los LPS. Existen cuatro principales categorías conocidas de LPPs por su función: los de función estructural (mureína), función de transporte (proteína ligada a substrato de transportadores ABC en micoplasmas), función de adhesinas, y función enzimática (Chambaud et al., 1999).

La inmunidad innata que se presenta como respuesta a *M. bovis* son la fagocitosis y la inflamación y estas respuestas son cruciales en las primeras fases de la infección. Los macrófagos alveolares en particular, son importantes en el desecho de los micoplasmas desde el pulmón. Sin embargo, una activación alveolar de macrófagos inapropiada por la bacteria puede promover una excesiva respuesta inflamatoria. La respuesta inmune perjudicial que se produce por causa de *M. bovis* se le atribuye al excesivo factor de necrosis tumoral α (TNF- α) por los macrófagos alveolares (Hermeyer et al., 2012). La activación de los macrófagos es el resultado de del reclutamiento de los neutrófilos a sitios de inflamación, y los neutrófilos son un tipo de célula prominente en los pulmones, oído medio y articulaciones (Gagea et al., 2006). Un excesivo reclutamiento de neutrófilos se desencadena como consecuencia de la liberación de grandes cantidades de mediadores inflamatorios y la extensión en el reclutamiento de estos neutrófilos está directamente correlacionada con la gravedad que ocasiona *M. bovis*. Aunque los neutrófilos son completamente capaces de acabar con los *M. bovis* opsonizados, los *M. bovis* sin opsonizar pueden adherirse a los neutrófilos e inhibir su actividad de estallar (Maunsell et al., 2011).

A diferencia de la inmunidad innata, la que predomina contra esta bacteria es la inmunidad humoral, al igual que en cualquier bacteria primero se presenta actividad de IgM e IgA, seguida de IgG. En el caso de *M. bovis* los anticuerpos de IgM e IgG pueden persistir por meses mientras que los anticuerpos de IgA son temporales e interfieren en la adherencia de los micoplasmas con su célula huésped (Carter & Wise, 2004). En infecciones respiratorias experimentales con *M. bovis* en terneros, por lo general provocan un gran respuesta humoral

(igual que en infecciones naturales) y es caracterizada por altos niveles de IgG₁ y muy pocos niveles de IgG₂; y una respuesta local de IgG e IgA (Vanden Busch & Rosenbusch, 2003).

Tanto la respuesta innata como la respuesta humoral son importantes en las infecciones contra *M. bovis* y la falla de ambas es ocasionada por los diferentes mecanismos de evasión que posee la bacteria.

2.7 Familia *Pasteurellaceae*

La familia Pasteurellaceae comprende 15 géneros de los cuales solo siete son de importancia veterinaria. Entre estos siete géneros, se encuentran los que participan en el CRB tales como *Histophilus*, *Mannheimia* y *Pasteurella*. Estos géneros comparten ciertas características sin embargo; algunos han sido reclasificados después de realizar estudios de hibridación de ácido desoxirribonucleico (ADN) y secuenciaciones del ácido ribonucleico ribosomal (ARNr).

2.8 *Mannheimia haemolytica*

Pasteurella haemolytica fue reclasificada como *Mannheimia haemolytica*; es una bacteria Gramnegativa por lo cual posee una cápsula y se presenta de manera oportunista en tracto respiratorio superior del bovino; presenta forma de coccobacilo, no móvil. Esta bacteria se le conoce como la causante la enfermedad pasteurelosis neumónica bovina (PNB), o más comúnmente nombrada fiebre de embarque, la cual se caracteriza por provocar lesiones de pleuroneumonía fibrinosa y necrotizantes. Los mecanismos de virulencia de esta bacteria son mediante:

- A. Leucotoxinas (Ltk), son exotoxinas que producen efectos tóxicos en los leucocitos del bovino.
- B. Proteína de unión transferrina o proteínas acarreadoras de hierro.
- C. Proteínas de membrana externa (PME); ayudan a que la bacteria se adhiera y sirva como transportadora a través de la membrana celular del hospedero
- D. Lipopolisacáridos (LPS); tiene las actividades como cualquier endotoxinas de bacterias gramnegativas: pirogénicas, activación de macrófagos, inducción del factor de tumoración, activación de la coagulación en cascada, agregación de plaquetas e inducción del choque endotóxico (Gyles et al., 2010; Jaramillo-Arango et al., 2009; Quinn et al., 2011).

Algunos investigadores han trabajado con los lipopolisacáridos LPS de *Pasteurella* y de *Mannheimia*, habiendo demostrado que una reacción inflamatoria experimental denominada reacción de Shwartzman local, puede estar involucrada como mecanismo patológico que explica el desarrollo de la lesión pulmonar en las bronconeumonías. Inclusive un fenómeno inflamatorio también experimental, denominado Reacción de Arthus, que a diferencia del anterior, requiere de un estado de hipersensibilidad mediado por anticuerpos, ha sido también implicado para explicar la gravedad de las lesiones cuando los animales han sido hiperinmunizados con bacterinas previamente (R Ramírez-Romero & Brogden, 2000).

2.9 *Histophilus somni*

Histophilus somni es una bacteria Gramnegativa, con forma bacilar, a la cual se le ha reclasificado y anteriormente se le conocía como *Haemophilus somnus*. Es una bacteria de la flora normal del tracto genital de bovinos machos y hembras, además de colonizar tracto respiratorio alto, y se sabe que pueden sobrevivir de las descargas nasales y vaginales por varios días a temperatura ambiente. Se caracteriza por provocar septicemias, y meningoencefalitis tromboembólica del ganado (TEM). Sus principales signos clínicos son mastitis, conjuntivitis, vaginitis y cervicitis, abortos e infertilidad. Uno de los factores de virulencia de la bacteria es la presencia de Lipooligosacáridos (LOS), los cuales tienen funciones parecidas a los LPS (Carlton L. Gyles, 2010; Jesús, Candelario, Francisco, & Manuel., 2008; PJ Quinn 2011).

2.10 *Pasteurella multocida*

Pasteurella multocida es una bacteria Gramnegativa en forma de cocobacilo la cual se encuentra de forma habitual en tracto respiratorio de los rumiantes domésticos, es por eso que produce infecciones endógenas a animales inmunosuprimidos o de manera exógena (en menor medida), ya sea por contacto directo o por aerosoles; se tienen identificados cinco tipos capsulares (A, B, D, y F). Además se le asocia con bronconeumonías crónicas del ganado bovino una vez que el animal se haya infectado por otras bacterias o virus o haya sido puesto bajo situaciones estresantes, también a septicemias hemorrágicas (tipos B y E). Esta bacteria posee un principal factor de virulencia que es la cápsula (relacionada a algunas sustancias químicas asociadas con la cápsula), la cual tiene una capacidad antifagocítica mayor

(principalmente las de cadena tipo A) y puede ayudar en la adhesión, también esta cápsula posee ácido hialurónico. Otro factor de virulencia de *P. multocida* son sus adhesinas las cuales pueden ser las fimbrias y hemaglutininas filamentosas las cuales promueven la adhesión a las células epiteliales (Campuzano Ocampo et al., 2011; Cruz et al., 2010; Quinn 2011; Villegas Vázquez et al., 2014). Lo anteriormente mencionado para el LPS de *Mannheimia haemolytica*, sobre las reacciones de Shwartzman y de Arthus, ha sido también demostrado para el LPS de *Pasteurella multocida* en las lesiones pulmonares de bronconeumonías (R Ramírez-Romero & Brogden, 2000).

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 Lugar donde se llevó a cabo la recolección de muestras

El presente trabajo se realizó en un rastro de Tipo Inspección Federal (específico para sacrificio de bovinos), del área metropolitana de Monterrey. El sacrificio de los bovinos se presenció con la finalidad de recolectar muestras de pulmones decomisados; atendiendo el criterio de inspección del Médico Veterinario Responsable Autorizado en Establecimientos TIF (MVRATIF). Los criterios de decomiso seguidos por el MVRATIF fueron en base a las Normas Oficiales Mexicanas NOM-009-ZOO-1994 (Procesamiento Sanitario de la Carne) y la NOM-031-ZOO-1995 (Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina) y a su experiencia.

3.2 Metodología de la clasificación de muestras

Después de los decomisos realizados por los MVRATIF, los pulmones se revisaron macroscópicamente viendo a qué tipo de lesión pertenecían y la causa por la que fueron decomisados. La lesión fue clasificada en una de las siguientes nomenclaturas: Bronconeumonía, bronquitis catarral, secuestro, fibroplasia pleural, broncoaspiración y enfisema, hemorragias petequiales, y finalmente hiperplasia de nódulos hemolinfáticos.

3.3 Transporte y fijación de las muestras

Para llevar a cabo la transportación de muestras, se obtuvieron aproximadamente entre 2 y 3 cm² de regiones de pulmón decomisado la cuales fueron identificadas, etiquetadas y transportadas en formalina amortiguada al 10%. Se obtuvieron 45 muestras de 111 decomisos en el rastro de un total de 720 animales revisados. La determinación de la población se llevó a cabo utilizando el software Working in Epidemiology (Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza © 2006) además se ha considerado un estudio sobre problemas respiratorios basados en los métodos de inspección de rastros (Lackech et al, 2012). Las muestras se procesaron por medio de la técnica de histopatología convencional y tinción con H&E. El proceso de fijación en formalina se realizó en un período entre 24 h y no mayor a 48 h debido a que posteriormente se realizó la técnica de inmunohistoquímica (IHQ).

3.4 Procedimiento histopatológico

Después del proceso de fijación en formalina las muestras se procesaron en histoquinete pasando por diferentes grados de alcohol en orden ascendente con la finalidad de deshidratar las muestras, luego siguieron el aclaramiento en Xileno y finalmente se incluyeron en parafina líquida; todo esto bajo el esquema nocturno de proceso (14-16 h.) (Heffess & Mullick, 1992).

Proceso nocturno en histoquinete

Alcohol 80°	1 h.
Alcohol 95° (tres cambios)	1 h. cada uno
Alcohol absoluto (tres cambios)	1 h. cada uno
Xileno (tres cambios)	1 h. cada uno
Parafina (tres cambios)	1 h. cada uno
Parafina al vacío	1 h. cada uno
Inclusión	1 h.

Una vez que se las muestras se encontraban incluidas en parafina, se cortaron en microtomo con un grosor de 4µm. Luego del corte siguió el estiramiento a baño María para posteriormente quitar el exceso de parafina con calor. Una vez finalizado esto, se procedió a la tinción con Hematoxilina & Eosina (H&E), utilizando nuevamente alcohol en diferentes grados en orden decreciente junto con enjuagues en agua destilada (Heffess & Mullick, 1992).

Secuencia de tinciones

Xileno (dos cambios)
Alcohol 100% (dos cambios)
Alcohol 95% (dos cambios)
Alcohol 80%
Agua Destilada
Hematoxilina de Mayer
Agua Corriente (enjuague)
Agua Destilada
Alcohol 80%
Eosina Floxina
Alcohol 95% (dos cambios)
Alcohol 100% (dos cambios)
Xileno (dos cambios)
Montaje (con resina sintética)

3.5 Procedimiento de Inmunohistoquímica

A las lesiones que se confirmaron que procedían de padecimientos infecciosos, compatibles con *Mycoplasma bovis* mediante histopatología correspondientes a bronconeumonía supurativa crónica con bronquiectasia abscedativa, bronquiolitis linfoproliferativa y bronquiolitis obliterante fueron las que se canalizaron para los estudios posteriores de Inmunohistoquímica (Hermeyer et al., 2012; Ramirez-Romero et al., 2010) y así confirmar la presencia de *Mycoplasma bovis* (Harlow & Lane. 1999).

Se procedió a realizar la recuperación antigénica con calor y presión, para posteriormente realizar un bloqueo endógeno con peroxidasa, y así hacer reposos y lavados en solución PBS. Luego de los lavados, se utilizó un anticuerpo primario y el anticuerpo secundario vino después del primario, incluyendo lavados en PBS entre los pasos de los anticuerpos. Finalmente se procedió al revelado con diaminobencidina (DBA), y se observaron las laminillas al microscopio hasta que saliera un resultado positivo, se hicieron lavados en agua destilada y los mismos pasos que se realizan para la tinción de H& E a partir de la Hematoxilina hasta el montaje.

Los resultados positivos se analizaron mediante el estadístico Kappa para confirmar la aproximación estadística de las lesiones características con la presencia de la bacteria (Kundel & Polansky, 2003). Para el cálculo de este procedimiento estadístico se utilizó el software Working in Epidemiology (Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza © 2006). Se utilizó una estimación de proporción por intervalo de confianza para la variable de decomiso del MVRATIF y los animales llegados de la engorda.

3.6 Bacteriología

La identificación bacteriológica se realizó en base al manual de identificación Cowan (2004). Los hisopos transportados en medios de Stuart fueron sembrados por método de dilución en estría en medio de agar sangre (Merck), agar chocolate y McConckey (Difco); posteriormente incubados a 37°C por 24 horas, de no haber crecimiento se dejó incubando hasta las 48 horas.

De las muestras donde hubo crecimiento y existía más de una colonia, se realizó el aislamiento en el medio donde creció originalmente y se re-incubó por 24 o 48 horas para obtener un cultivo puro.

Una vez obtenidos cultivos puros se procedió a su identificación; se inició con la descripción morfológica de las colonias indicando el tiempo y medio de cultivo donde creció; esta fue realizada en base a las características macroscópicas. Posteriormente se agrupó en base a su afinidad tintorial basándola en la tinción de Gram y observando al microscopio a 100X.

Para la identificación final se realizaron pruebas bioquímicas primarias como la de catalasa y oxidasa; las pruebas bioquímicas secundarias como la utilización del medio de TSI (triple azúcar y hierro), prueba de ureasa, utilización de citrato, medio de SIM (sulfhídrico, indol y motilidad) (Koneman et al., 2008) y complementarias para una identificación final como la utilización o no de algunos carbohidratos como glucosa, arabinosa, maltosa, etc; en caso de requerirla, se utilizó el API20NE (Biomeriux) para llegar a una identificación final. Tomando como base los cuadros para la identificación bacteriológica (Barrow & Feltham, 2004), se determinó el agente por coincidencia o proximidad de género y especie.

3.7 Estimación porcentual de los criterios del MVRATIF

Tanto la variable para el criterio del decomiso por el MVRATIF como para la determinación de que los decomisos son por secuelas de origen infeccioso se utilizaron las siguientes ecuaciones para estimar los intervalos de confianza:

$$L.I. = \rho - t_{(\alpha/2)} \sqrt{\frac{\rho(1-\rho)}{n}} ; \quad L.S. = \rho + t_{(\alpha/2)} \sqrt{\frac{\rho(1-\rho)}{n}}$$

En donde, L.I y L. S. son los limites de confianza inferior y superior, respectivamente; ρ es la proporción estimada, $t_{(\alpha/2)}$ es valor de tablas de la distribución t con $\alpha = 0.05$ y n es el tamaño de la muestra.

Para la equiparación de resultados entre la concordancia de los hallazgos observados microscópicamente por la tinción con H&E y por la IHQ se han calculado los valores de concordancia con el coeficiente de Kappa.

4. RESULTADOS.

4.1 Caracterización macroscópica de las lesiones pulmonares y sus porcentajes

Un total de 720 animales fueron observados durante su sacrificio en un rastro (rastros tipo TIF), de los cuales se obtuvieron 111 decomisos realizados por MVRATIF (que se han clasificado en la Tabla 2). A su vez dentro del total de decomisos se obtuvieron 27 muestras con lesiones pulmonares compatibles con CRB (grupo 1 bronconeumonía supurativa crónica) para trabajarse dentro de los objetivos propuestos en este trabajo.

Tabla 2. Resultados compilatorios de lesiones macroscópicas expresado en porcentajes

No./ Total	Término usado en rastro	Nomenclatura Patológica	Grupo de lesiones	Observaciones
Grupo 1				
12/720 (1.66%)	Neumonía	Bronconeumonía/ Bronquiectasia	Bronconeumonía Crónica y Secuelas.	Derivadas de problemas en medicina preventiva y tratamiento de animales enfermos.
5/720 (0.69%)	Moco	Bronquitis catarral	Bronconeumonía Crónica y Secuelas.	Derivadas de problemas en medicina preventiva y tratamiento de animales enfermos.
1/720 (0.13%)	Absceso parénquima	Secuestro (necrosis caseosa de parénquima)	Bronconeumonía Crónica y Secuelas.	Derivadas de problemas en medicina preventiva y tratamiento de animales enfermos.
Grupo 2				
71/720 (9.86%)	Adherencias	Fibroplasia pleural focal/difusa	Otras lesiones No Bronconeumónicas.	Probable relación con problemas digestivos.
Grupo 3				
4/720 (0.55%)	Hemorragias	Hemorragias petequiales	Lesiones derivadas de una mala insensibilización.	Lesiones derivadas de procedimientos inadecuados en el sacrificio.
15/720 (2.08%)	Contenido ruminal	Broncoaspiración y enfisema	Lesiones derivadas de una mala insensibilización.	Lesiones derivadas de procedimientos inadecuados en el sacrificio.
Grupo 4				
2/720 (0.27%)	Nódulos	Hiperplasia de nódulos hemolinfáticos	No corresponde a lesión.	Particularidad en la distribución de tejido hemolinfático en el órgano. Probablemente no corresponde a lesión.
Grupo 5				
1/720 (0.13%)	Absceso ganglio	Linfadenitis abscedativa, ganglios mediastínicos	Lesión infecciosa no pulmonar	Derivadas de problemas en medicina preventiva y tratamiento de animales enfermos.

4.2 La estimación porcentual por intervalos de confianza para los criterios de decomiso del MRVATIF

Los decomisos de pulmón realizados por el MVRATIF se estimaron por medio de un intervalo de confianza con 95% de confiabilidad encontrando que el porcentaje de decomiso real está entre 8.7% y 22% considerando todos los animales sacrificados.

Los decomisos provenientes de enfermedades infecciosas (lesiones bronconeumónicas), de acuerdo a la estimación por intervalo, están entre 9.3% y 23%, considerando todos los decomisos como 100%. Además, los decomisos provenientes de enfermedades no infecciosas (lesiones no bronconeumónicas), de acuerdo a la estimación por intervalo, está entre 55% y 72.9% también del total de los decomisos.

4.3 Concordancia ente pruebas diagnósticas H & E e IHQ

Los exámenes diagnósticos H & E e IHQ presentan un grado de concordancia escaso (kappa es igual a 0.106), debido a que las pruebas de IHQ para *Mycoplasma bovis* y VRS fueron negativas (tabla 6). Los resultados de concordancia se presentan en la Tabla 3 junto con la interpretación de la concordancia.

Tabla3. Resultados del coeficiente Kappa

Coeficiente Kappa : 0.065	
Valor kappa	Fuerza de la concordancia por encima del azar
0	Pobre
0 – 0.20	Leve
0.21 – 0.40	Aceptable
0.41 – 0.60	Moderada
0.61 – 0.80	Considerable
0.81 – 1.00	Casi perfecta

4.4 Aislamiento bacteriológico de las lesiones con bronconeumonía y traqueobronquitis que presenten exudado

Para los cultivos bacteriológicos se procedió a tomar muestras en hisopos con medio Stuart de las lesiones que en el momento del sacrificio de los animales resultaron de interés. Se obtuvieron los siguientes resultados mencionado en la Tabla 4.

Tabla 4. Resultados de Bacteriología

Exudado número	Resultado de Crecimiento Bacteriológico	Grupo de lesiones al que pertenecen
1	Sin crecimiento	Grupo 1: Bronconeumonía crónica y sus secuelas.
2	Sin crecimiento	Grupo 2: Otras lesiones No bronconeumónicas.
5	Sin crecimiento	Grupo 1: Bronconeumonía crónica y sus secuelas.
6	<i>Pasteurella multocida</i>	Grupo 2: Otras lesiones No bronconeumónicas.
14	<i>Pasteurella multocida</i> <i>Bacillus spp.</i>	Grupo 2: Otras lesiones No bronconeumónicas.

15	<i>Klebsiella spp.</i>	Grupo 1: Bronconeumonía crónica y sus secuelas.
21	<i>Bacillus spp.</i>	Grupo 2: Otras lesiones No bronconeumónicas.
24	Sin crecimiento	Grupo 1: Bronconeumonía crónica y sus secuelas.
25	<i>Pasteurella spp.</i>	Grupo 2: Otras lesiones No bronconeumónicas.
26	<i>Proteus penneri</i>	Grupo 2: Otras lesiones No bronconeumónicas.
27	Sin crecimiento	Grupo 2: Otras lesiones No bronconeumónicas.
28	<i>Enterobacter spp.</i>	Grupo 2: Otras lesiones No bronconeumónicas.
29	<i>Streptococcus faecium</i>	Grupo 1: Bronconeumonía crónica y sus secuelas.
30	Sin crecimiento	Grupo 2: Otras lesiones No bronconeumónicas.
31	Sin crecimiento	Grupo 1: Bronconeumonía crónica y sus secuelas.
33	<i>Staphylococcus aureus</i>	Grupo 2: Otras lesiones No bronconeumónicas.
41	<i>Streptococcus spp.</i>	Grupo 1: Bronconeumonía crónica y sus secuelas.
42	<i>Pasteurella multocida</i>	Grupo 1: Bronconeumonía crónica y sus secuelas.
43	<i>Staphylococcus spp.</i>	Grupo 1: Bronconeumonía crónica y sus secuelas.
44	<i>Pasteurella spp.</i>	Grupo 1: Bronconeumonía crónica y sus secuelas.
45	<i>Mannheimia haemolytica</i>	Grupo 1: Bronconeumonía crónica y sus secuelas.

Grupo 2 lesiones No bronconeumónicas con aislamiento de bacterias 7 de ellas irrelevantes consideradas contaminantes y 3 con aislamiento de *P. multocida*, en ausencia de lesiones tanto macroscópicas y microscópicas de bronconeumonía. Los restantes aislamientos de pulmones confirmados con bronconeumonía (Grupo 1) incluyeron 1 con *Mannheimia haemolytica*, 1 con *Pasteurella multocida*, 1 con *Pasteurella spp.* Todos estos considerados patógenos asociados con la lesión. 1 caso con *Klebsiella spp* y otro con *Staphylococcus*, considerados ambos potencialmente patógenos de vías respiratorias y *Streptococcus faecium* y *Streptococcus spp* considerados contaminantes y 4 sin crecimiento bacteriano.

4.5 Descripción macroscópica y microscópica de las lesiones pulmonares y demostración de *M. bovis* y VRS mediante Inmunohistoquímica

Todas las muestras enviadas para IHQ correspondieron macroscópicamente al grupo 1, tanto en los criterios macroscópicos como microscópicos.

Los resultados de las muestras enviadas para estudios de inmunohistoquímica aparecieron negativos tanto para *Mycoplasma bovis* como para VRS, se señalan en la tabla 5.

Tabla No. 5 Resultados de pruebas de Inmunohistoquímica

Prairie Diagnostic Services		Final REPORT	52 Campus Drive Saskatoon S7N 5B4 TEL: (306) 966-7316 FAX: (306) 966-2488
D14-13186		30-Apr-2014	
Block ID	Test	Result	Comments
13-137-1	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> VRS or <i>Mycoplasma bovis</i> antigens were not detected in any of the lung sections. Dale Godson Veterinary Microbiologist April 30, 2014 </div>
13-137-2	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative	
13-137-5	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative	
13-137-5	VRS	Negative	
13-137-6	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative	
13-137-7	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative	
13-137-7	VRS	Negative	
13-137-9	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative	
13-137-10	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative	



13-137-11	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-11	VRS	Negative
13-137-14	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-14	VRS	Negative
13-137-15	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-15	VRS	Negative
13-137-21	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-22	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-24	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-25	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-25	VRS	Negative
13-137-26	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-27	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-28	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-29	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-30	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-31	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-35	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-35	VRS	Negative
13-137-36	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-37	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-41	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-43	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-43	VRS	Negative
13-137-44	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-44	VRS	Negative
13-137-45	<i>Mycoplasma bovis</i>	Negative
13-137-45	VRS	Negative

Todos los procedimientos aquí contenidos para *Mycoplasma bovis* (Tabla 5), tienen correspondencia con las lesiones macroscópicas (Figuras 1, 2, 3 y 4) y microscópicas (Figuras

5 y 6) incluidas como bronconeumonía supurativa crónica y secuelas relacionadas, respectivamente. Para lesiones resultantes del tipo de atelectasia y enfisema (Figura 7) la prueba de IHQ también resultó ser negativa a *M. bovis*. En el caso de los procedimientos para VRS además de lo anterior, hubo evidencia microscópica de células sinciciales (Figura 8).

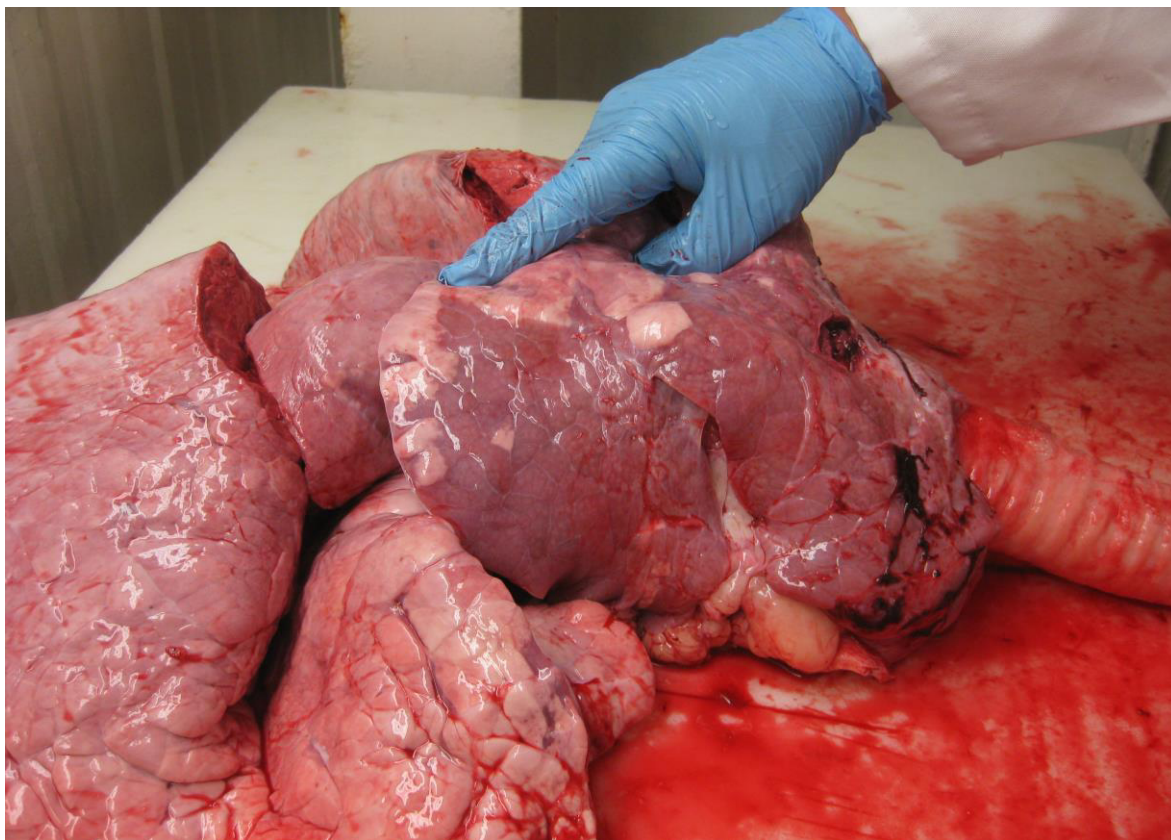


Figura 1. Grupo 1. Pulmón macroscópico con Bronconeumonía crónica, lesión perteneciente al grupo 1. La lesión de distribución craneoventral y la firmeza constataron que se trató de una bronconeumonía crónica. Estas lesiones son representativas de las lesiones pulmonares que caracterizan al CRB.



Figura 2. Grupo 1. Pulmón macroscópico con bronconeumonía crónica



Figura 3. Grupo 1 Bronconeumonía supurativa crónica y bronquiectasia. Se observa la acentuación de lobulillos y presencia de exudado caseonecrótico.



Figura 4. Grupo 1 Bronconeumonía supurativa crónica; el exudado sale de bronquios dilatados (bronquiectasia). Se aprecia el aspecto carnososo y exudado caseoso.

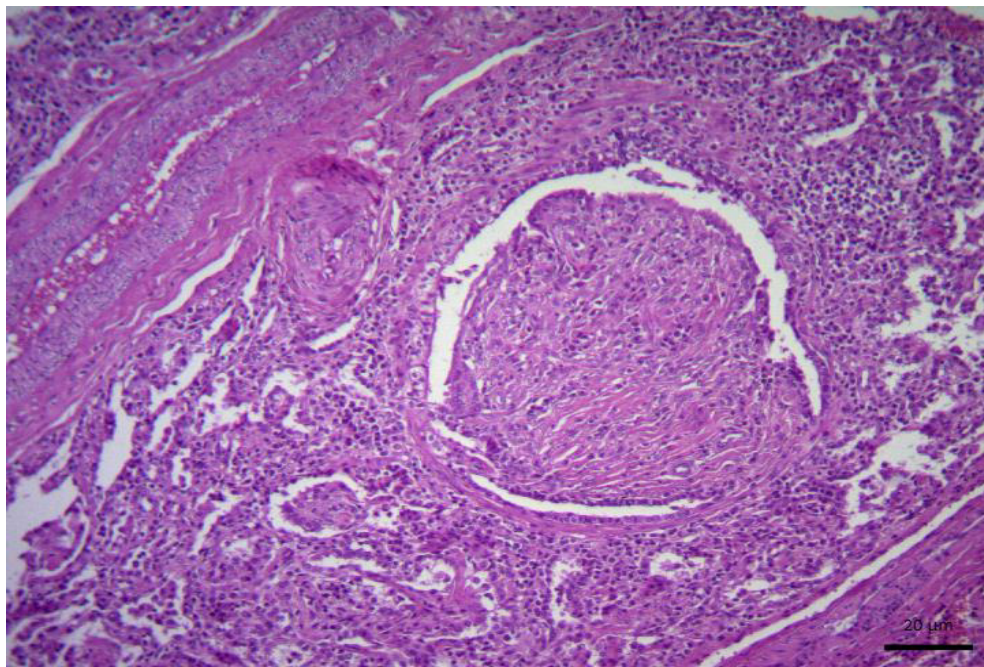


Figura 5. Grupo 1. Lesión microscópica con bronquiolitis obliterante H&E

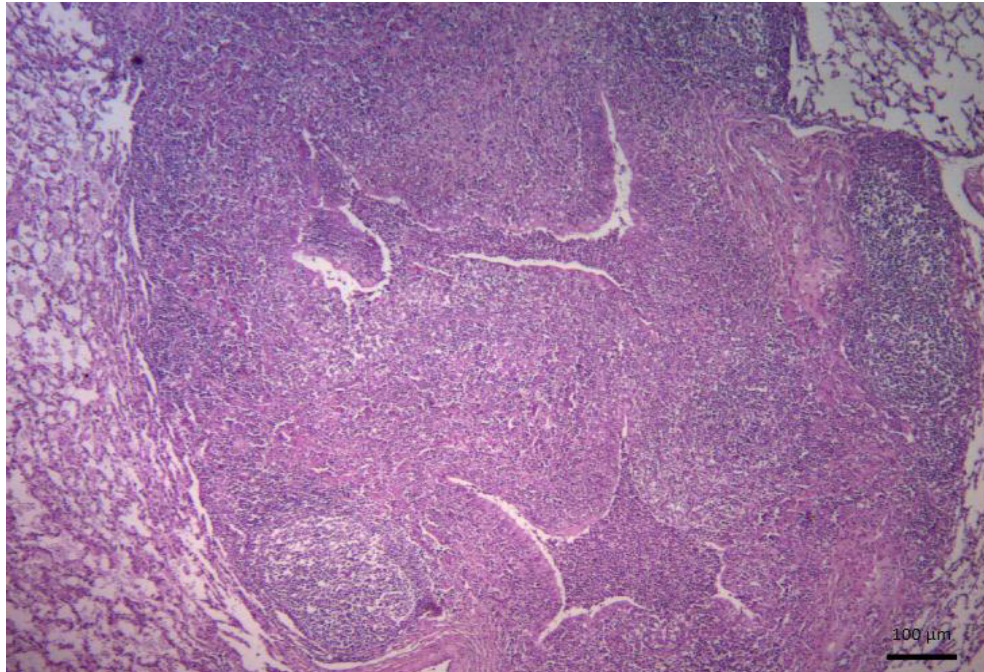


Figura 6. Grupo 1. Lesión microscópica con bronconeumonía, bronquitis e hiperplasia linfoide H&E.

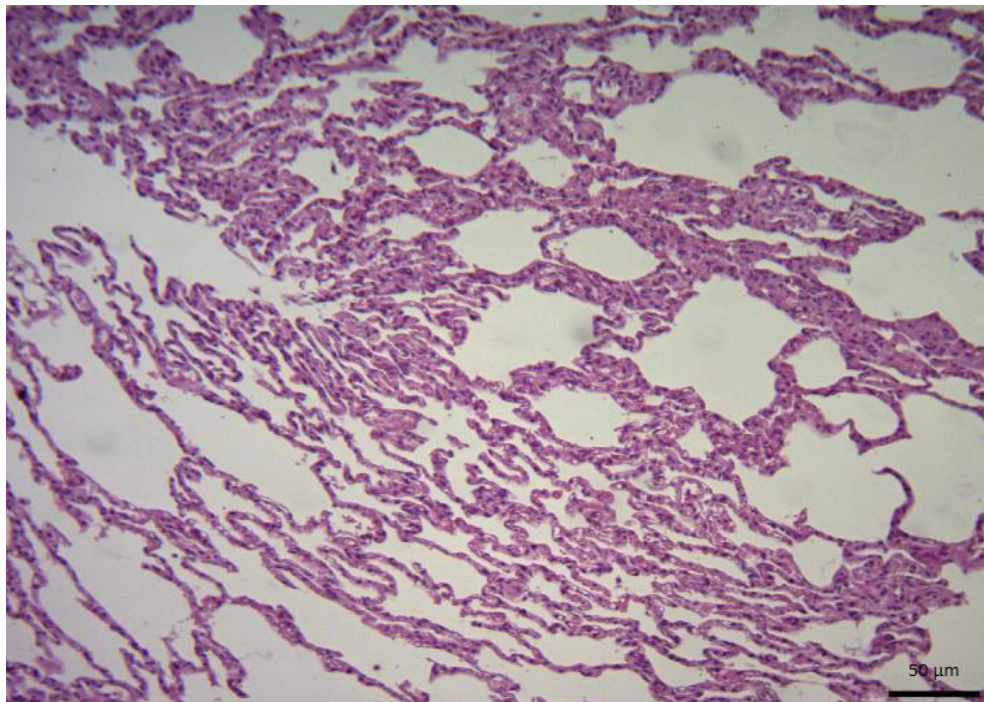


Figura 7. Grupo 1. Lesiones no específicas, asociadas a bronconeumonía supurativa crónica, atelectasia margen inferior; enfisema margen superior H&E.

Esta imagen (Figura 7) corresponde a lesiones colaterales asociadas a la obliteración por exudados de los bronquios y bronquiolos con bronquiectasias y bronquiolitis obliterante, respectivamente.

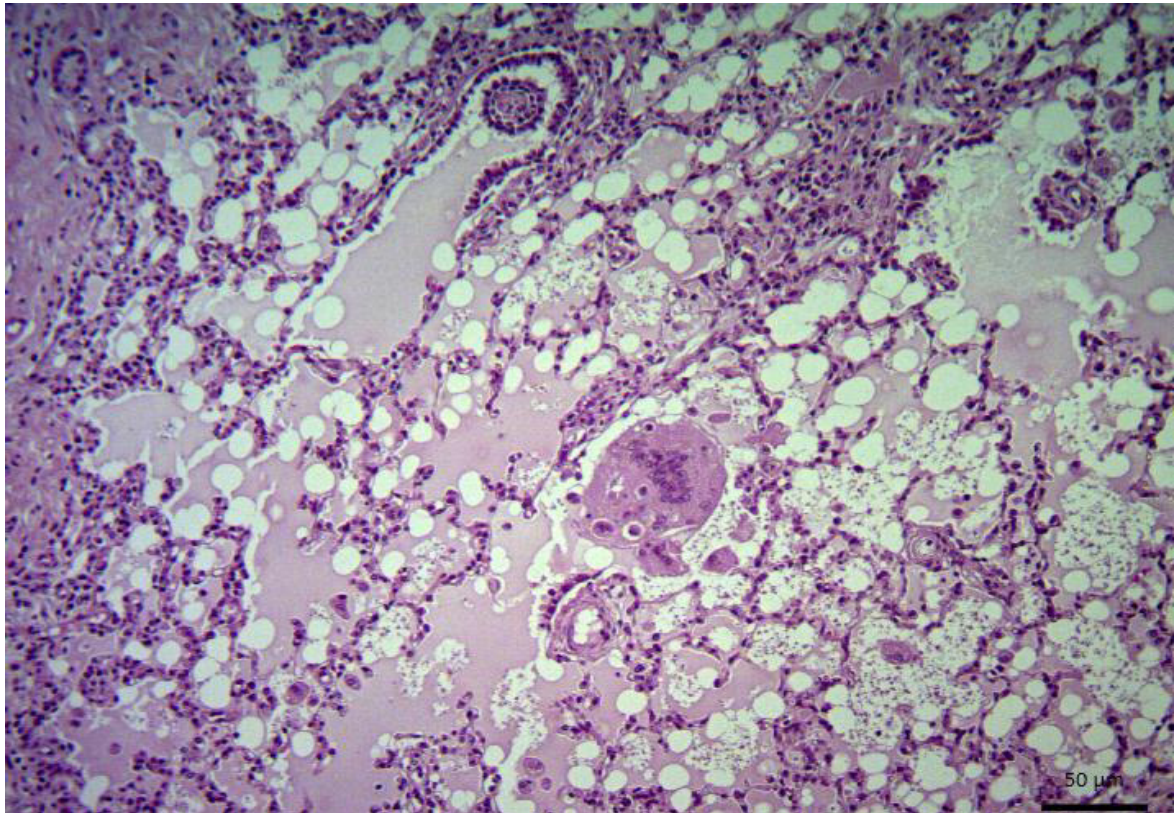


Figura 8. Grupo 1. Lesión microscópica presencia de una célula sincitial H&E.

La traqueobronquitis purulenta (exudado mucopurulento) que se presenta en la figura 9 pertenece al grupo de lesiones 1 (bronconeumonía crónica y sus secuelas). La lesión microscópica que resulta de esto, es una bronquiolitis obliterante la cual se muestra en la figura 10.

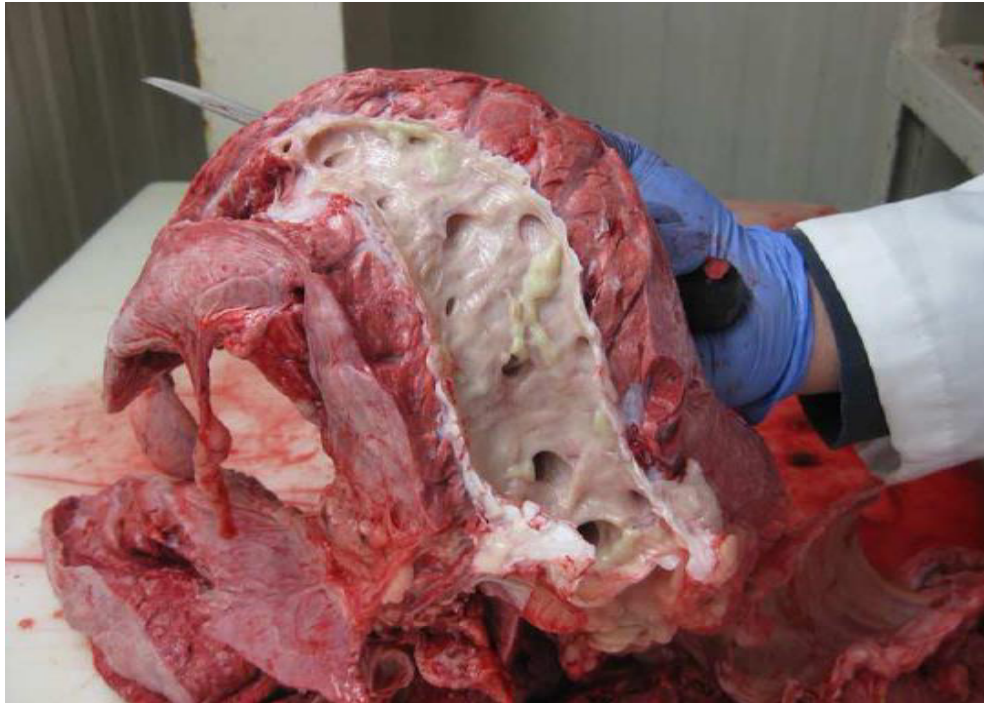


Figura 9. Grupo 1. Pulmón lesión macroscópica con traqueobronquitis mucopurulenta.

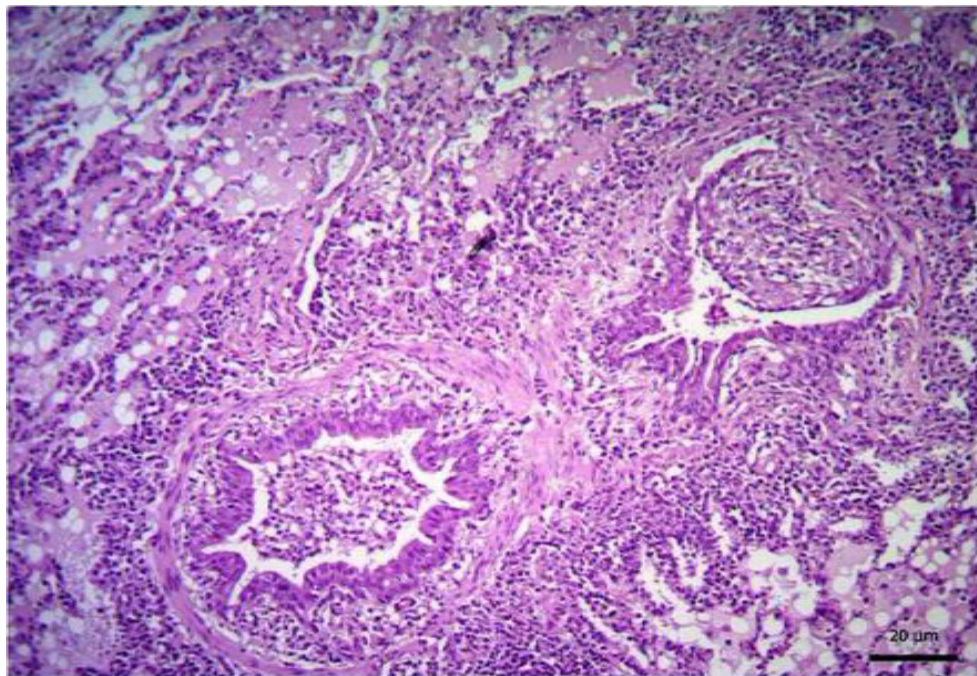


Figura 10. Grupo 1. Lesión microscópica hay exudado que ocluye dos bronquiolos (bronquiolitis obliterante) H&E.

Las figuras 11 y 12 muestran una marcada fibroplasia pleural (terminología anatomopatológica) o adherencias (en diagnóstico sindrómico) no correspondieron a bronconeumonía sino a neumonía intersticial. Por esta razón fueron incluidas dentro del grupo 2: lesiones no bronconeumónicas). Las lesiones microscópicas en correspondencia con las lesiones macroscópicas que aquí se incluyeron son las de fibroplasia pleural, además de engrosamiento de septos interlobulillares (neumonía intersticial Figuras 13). En la figura 14 se observan los septos alveolares engrosados (fibroplasia intersticial) debido a una neumonía intersticial.



Figura 11. Grupo 2. Pulmón lesión macroscópica que muestra una pleuritis fibrinosa como consecuencia de fibrosis pleural.

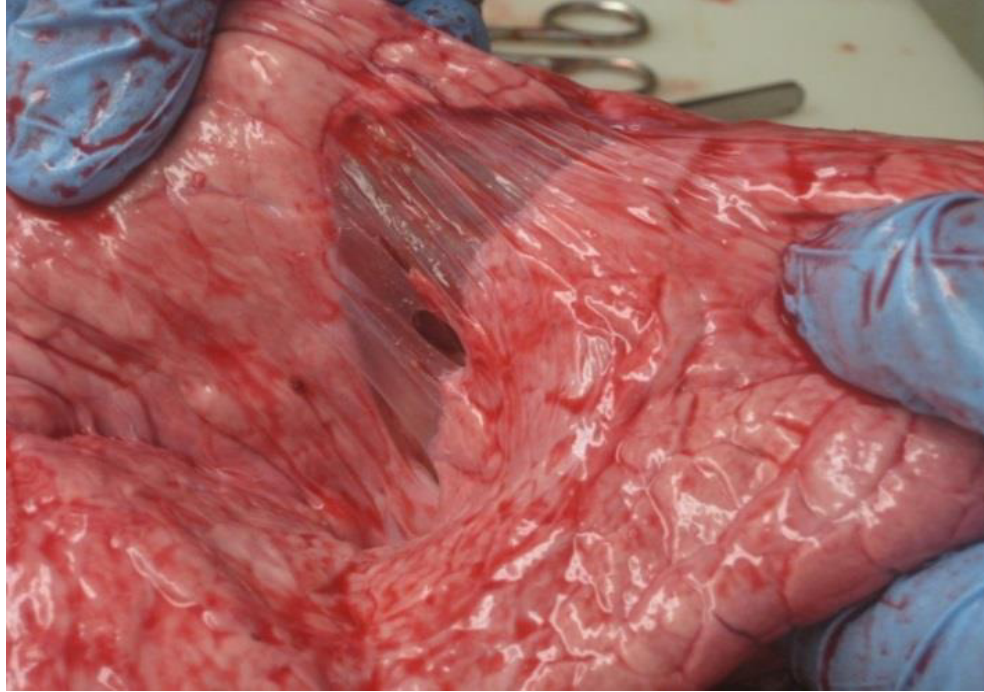


Figura 12. Grupo 2. Pulmón lesión macroscópica en donde se opbserva una fibroplasia pleural.

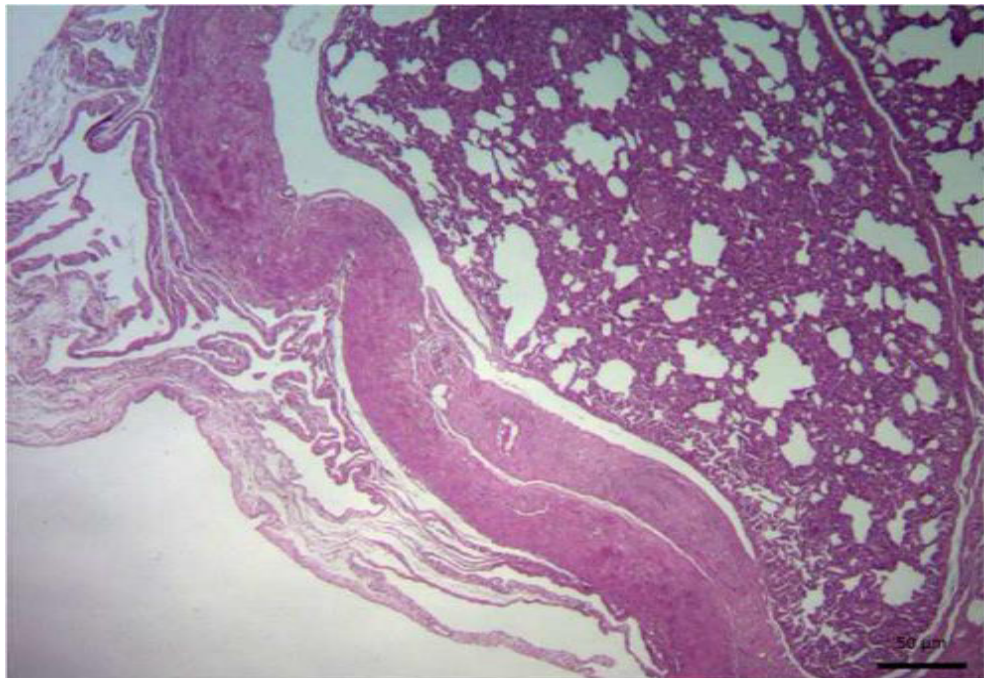


Figura 13. Grupo 2. Lesión microscópica de engrosamiento de los septos interlobulillares y fibroplasia pleural H&E.

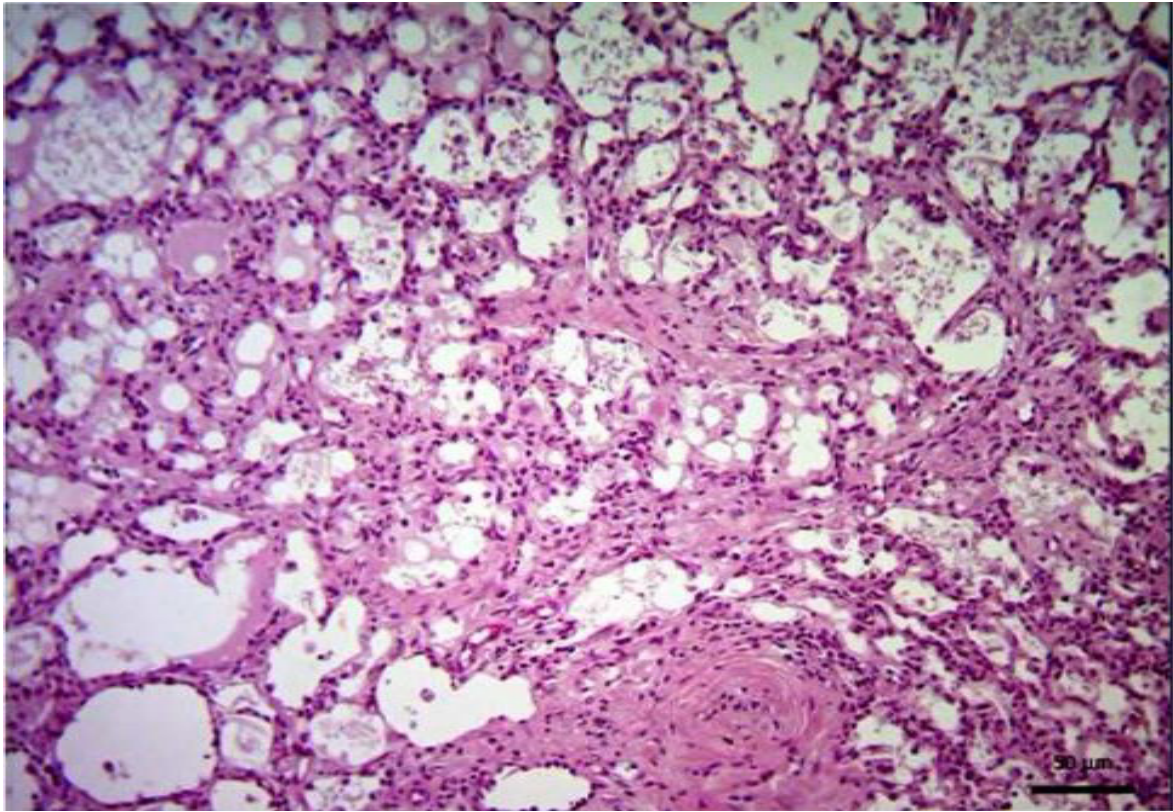


Figura 14. Fotografía microscópica de pulmón H&E. Engrosamiento de los septos alveolares debido a una fibroplasia intersticial, la cual es una lesión correspondiente al grupo 2: lesiones no bronconeumónicas.

En el grupo de lesiones número 3 (lesiones derivadas de una mala insensibilización); macroscópicamente se observaron broncoaspiraciones con enfisemas y hemorragias petequiales (Figuras 15, 16 y 17).

La Figura 15 muestra el contenido ruminal en vías aéreas y como consecuencia de esta lesión se presenta enfisema (Figura 16). Las hemorragias petequiales presentes en la Figura 17 se observan tanto en el parénquima pulmonar como superficialmente en pleura (Figura 18).

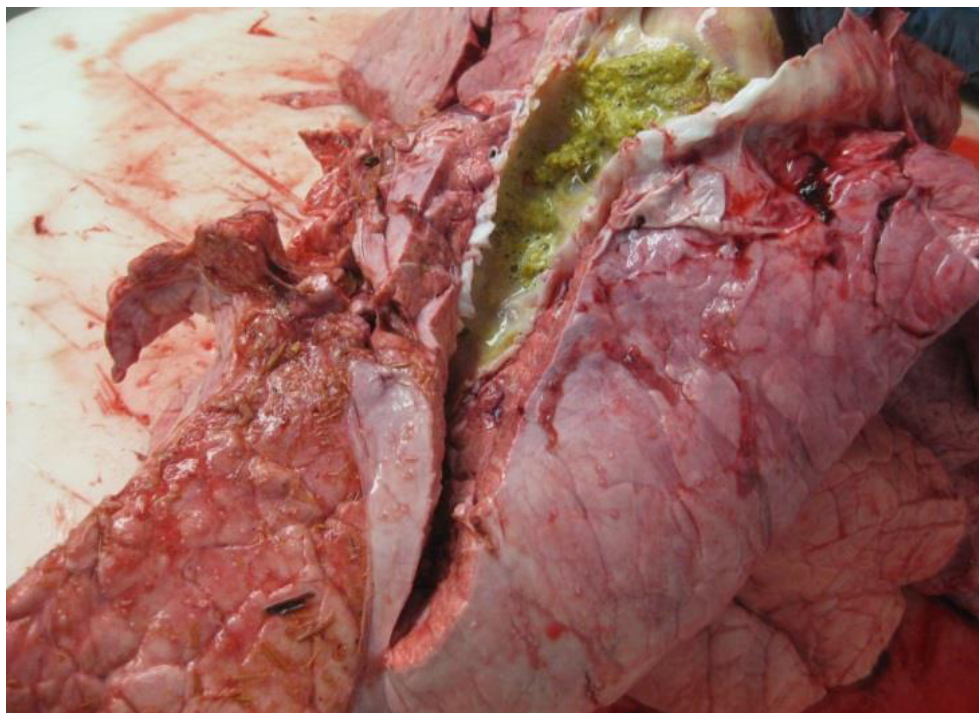


Figura 15. Grupo 3. Lesión macroscópica muestra un pulmón ocupado con contenido ruminal.

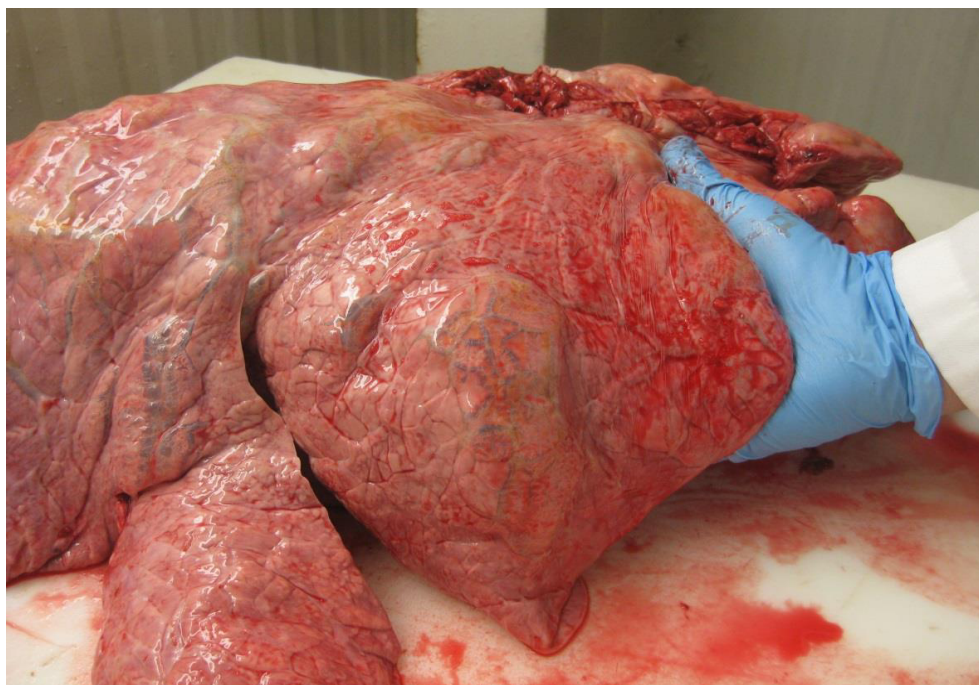


Figura 16. Grupo 3. Pulmón macroscópico con enfisema.

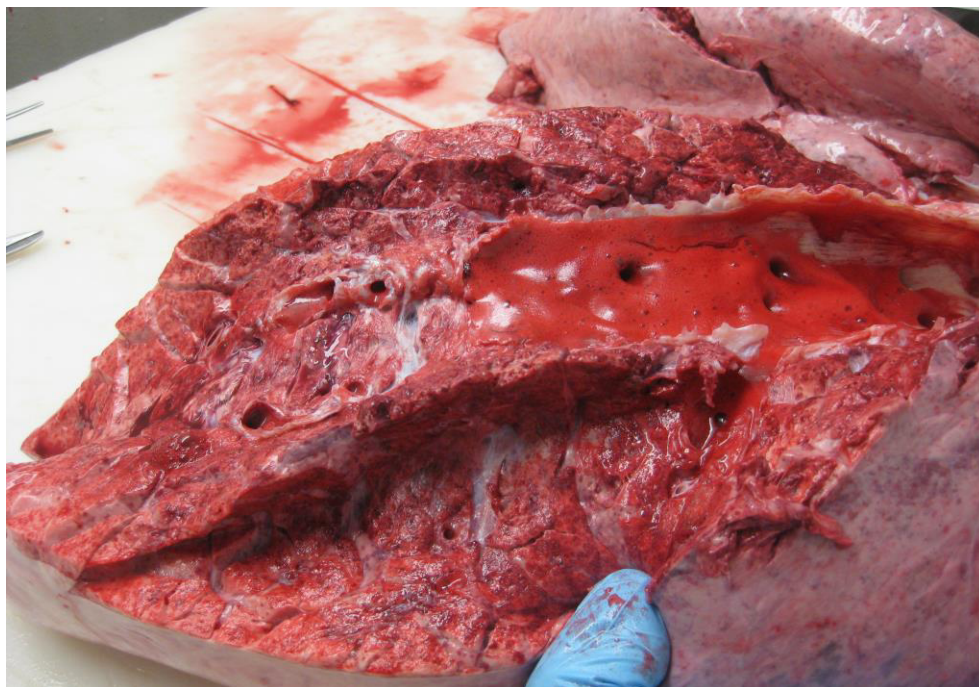


Figura 17. Grupo 3. Pulmón macroscópico con hemorragias petequiales en parénquima pulmonar y sangre en vías aéreas.



Figura 18. Grupo 3. Lesión con hemorragias petequiales en la superficie del pulmón.

En el grupo número 4 (no corresponde a lesiones) se clasifica la presencia de ganglios hemolinfáticos los cuales se parecían como una distribución muy particular de tejido hemolinfático la cual no corresponde a lesión. La Figura 19 muestra la apariencia macroscópica de los ganglios hemolinfáticos y la Figura 20 es la forma microscópica de estos ganglios los cuales muestran un patrón histológico normal.

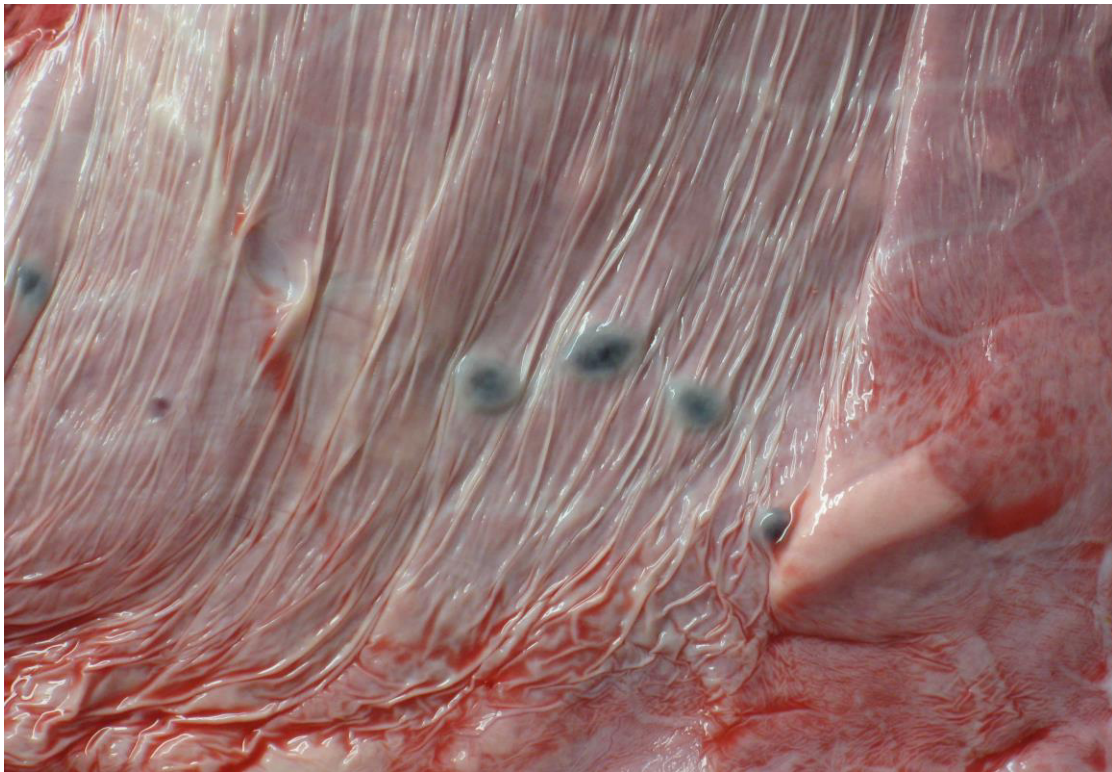


Figura 19. Grupo 4. Pulmón macroscópicamente con la presencia de ganglios hemolinfáticos.

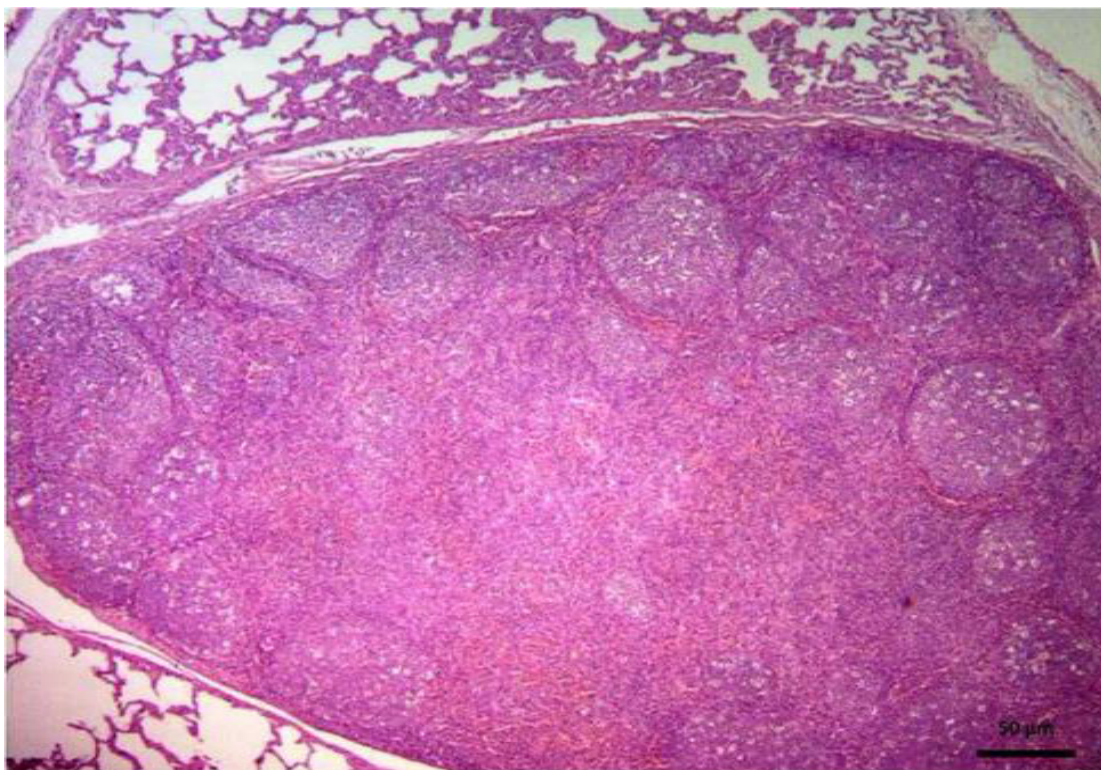


Figura 20. Grupo 4. Pulmón microscópico donde se observa el tejido linfoide normal, H&E.

5. DISCUSIÓN.

El orden en que se observaron las lesiones que causaron los decomisos; las adherencias, (fibroplasia pleural), que pertenecen al grupo 2, ocuparon el primer lugar al ser las más frecuentes en este estudio, después fueron los contenidos ruminales (las broncoaspiraciones y enfisemas derivados de procedimientos inadecuados en el sacrificio), pertenecientes al grupo 3, y en tercer y cuarto lugar fueron las neumonías (Bronconeumonía supurativa crónica, bronquiectasia), y el moco en vías respiratorias (Traqueobronquitis mucopurulenta), las cuales ambas se clasifican en el grupo 1, todas estas resultan ser una de las lesiones más

frecuentemente observadas, en el ganado que se sacrificó en el rastro Tipo Inspección Federal. Y además todas estas lesiones (grupo 1, grupo 2 y grupo 3) causan decomisos parciales y en la mayoría de las veces decomisos completos del órgano. En estudios realizados en otras partes del mundo como Sudáfrica, se reporta una incidencia de lesiones neumónicas mayor, 8.6% (Taylor et al., 2010a, 2010b) a la que se encontró en esta investigación. En los Estados Unidos la incidencia de neumonías ha sido registrada con un valor similar a la reportada en Sudáfrica, 8.7% (Griffin, 1997; Dupuy et al., 2013; Thompson et al., 2006). En cambio en Francia, se encontró en un 2.8%, un valor más próximo a nuestros resultados (1.66%) (Dupuy et al., 2013). Sin embargo, habrá de puntualizarse que el trabajo en Francia se realizó en rastros de bovinos en general, mientras que en los Estados Unidos y Sudáfrica se realizó, al igual que en este estudio, en rastros de bovinos que sacrifican animales engordados en corral. Cabe mencionar que absolutamente todos los estudios que se han hecho con respecto a este tema, solo han proporcionado resultados de tipo sindrómico, lo cual no termina de especificar lo que realmente son lesiones neumónicas (Alton et al., 2012; Dupuy et al., 2013). Sin embargo, en nuestro estudio a estas lesiones se les ha proporcionado un nombre y una causa utilizando la anatomía patológica. Además, en esta investigación también hubo diagnóstico microscópico; lo cual nunca se había mostrado en trabajos anteriores. A medida que se fueron observando los decomisos en el sacrificio se observaron que al igual que en los estudios mencionados, las neumonías ocupaban el primer lugar en decomisos, sin embargo una vez que se empezó a utilizar el diagnóstico morfológico macroscópico y microscópico las lesiones se fueron clasificando en los grupos del 1 al 4; y se determinó que la principal causa de decomiso han sido por causas no neumónicas (grupo 2) y son las que se habían nombrado como adherencias (fibroplasias pleurales). Estas fibroplasias pleurales, se determinaron procesos no neumónicos y microscópicamente se observan como neumonías intersticiales. La presencia dominante de

estas lesiones (fibroplasia pleural) resulta ser compatible con lo encontrado en estudios realizados en Sudáfrica (Thompson et al., 2006) por lo tanto, sería conveniente averiguar la presencia de *Histophilus somni* en estas lesiones.

Un punto digno de consideración es el decomiso completo de los pulmones debido a errores durante el proceso de sacrificio (grupo 3, lesiones derivadas de procedimientos inadecuados en el sacrificio). En nuestro trabajo se registra con frecuencia broncoaspiración de contenido ruminal y enfisema. Se ha señalado que en estos casos influye un período de espera prolongado antes del sacrificio, contenido acuoso en rumen debido a la ingestión de grandes volúmenes de agua durante la estancia extendida y, lo más importante, una mala insensibilización (Dupuy et al., 2013; Ríos Rincón et al., 2012). Las Hemorragias Petequiales (0.27%), también incluidas en este grupo, guardan igualmente relación con lo anterior y además, con irregularidades en la aplicación de descarga eléctrica a la canal, por lo tanto, estos factores deberán corregirse.

De forma microscópica las lesiones que se encontraron en algunos animales del presente estudio fueron indicativas de CRB como Bronconeumonía supurativa crónica, bronquiectasia y, microscópicamente bronquiolitis obliterante. Durante estos descubrimientos microscópicos al observar que no había hallazgos suficientes para considerar las lesiones decomisadas que fueran causa del patógeno en estudio, se decidió enviar las muestras más sugestivas a estudios inmunohistoquímicos las cuales resultaron negativas a esta prueba. Este resultado es compatible con investigaciones realizadas al norte de Italia en donde se encontró que aunque *M. bovis* fue la bacteria más común que se aisló de lesiones neumónicas en terneros y en menor cantidad en ganado adulto en su sacrificio en rastro. Los terneros fueron los que salieron

positivos en pruebas de IHQ para *M. bovis*, mientras que el ganado adulto no apareció positivo a esta prueba. Este hallazgo fue la conclusión de que esta bacteria causa lesiones y se mantiene activa en ganado joven y en menor cantidad en ganado adulto, como fue nuestro caso, ya que en el rastro se recibían bovinos de corral de engorda adultos (Radaelli et al., 2008).

Las muestras que resultaron con lesiones de atelectasia, se les realizaron estudios de IQH, resultando negativos a *M. bovis*, lo cual confirma que estas lesiones son compatibles con el patógeno estudiado, pero no garantiza la presencia del antígeno ya que no son del todo específicas, sin embargo cabría señalar que en este tipo de muestras como se mencionó con anterioridad debieran considerarse futuros estudios relacionado con la presencia de *Histophilus somni*.

Como estudio complementario, a estas lesiones que se sabía no eran compatibles con *M. bovis* se les realizaron estudios bacteriológicos, lo cuales estuvieron contemplados en los objetivos particulares del nuestro estudio. Fue entonces que el hecho de haber considerado estos estudios alternos nos ha abierto un panorama en donde se encontraron bacterias participantes en el CRB como lo son *Pasteurella multocida* y *Mannheimia haemolytica* (Gagea et al., 2006; Maunsell et al., 2011; Nicholas & Ayling, 2003). En Irán se realizó una investigación en 1000 pulmones de ovejas a los cuales se les realizaron estudios histopatológicos al 4.2% de estos 1000 pulmones debido a que pertenecían a problemas neumónicos (bronconeumonía supurativa, neumonía intersticial, neumonía broncointersticial, bronconeumonía fibrinosa y neumonía embólica), siendo *P. multocida* la bacteria mayormente aislada, seguida con *Staphylococcus aureus*. Este hallazgo coincide con esta investigación debido a que en las

pruebas bacteriológicas *P. multocida* resultó ser la bacteria que se aisló en mayor cantidad en lesiones neumónicas decomisadas de bovinos de corral de engorda (Azizi et al., 2013).

Aunque se sabe que la metafilaxia empleada correctamente disminuye los padecimientos neumónicos representativos del CRB, en este caso no podría asegurarse que el empleo adecuado de esta estrategia disminuirá las lesiones pulmonares porque las principales lesiones fueron pleuritis y la principal neumonía, advertida en histopatología fue neumonía intersticial sin correspondencia con CRB y por ende la metafilaxia no tendría un efecto claro al respecto. Las neumonías intersticiales pueden ser ocasionadas por virus, particularmente VRS y PI3; sin embargo, aquí no hubo tal correspondencia y no puede atribuirse a éstas infecciones, que en todo caso serían transitorias y posteriormente reemplazadas por una franca bronconeumonía supurativa o fibrinosa. En este trabajo en algunos de los pulmones con bronconeumonía supurativa crónica se advirtió la presencia de células gigantes que son representativas del VRS (Figura 7). No obstante; los resultados fueron negativos. Ramírez Romero con anterioridad había advertido la presencia de células sincitiales que no correspondían con infección viral sino con un desarrollo crónico de neumonías por inoculación experimental con *M. haemolytica* en borregos, así como la presencia de bronquiolitis obliterante (Rafael Ramírez-Romero et al., 2001). Por tanto este hallazgo y la negatividad en IHQ a VRS es parte de lo que ya se había observado al comprobarse categóricamente las lesiones crónicas de bronconeumonía en los casos aquí registrados. Lo cual viene a confirmar que las lesiones que se decomisaron dentro del rastro Tipo Inspección Federal ubicado en el municipio de Guadalupe Nuevo León y que fueron utilizadas para realizar el presente estudio no pertenecieron a lesiones causadas por *M. bovis*. Ha quedado establecido que las infecciones neumónicas por *Mycoplasma bovis* son muy importantes en el corral pero no lo son en el

rastro, quizás porque su severidad causa la muerte y la disposición de los animales enfermos antes de que alcancen el peso y características necesarias para su sacrificio en rastro. Asimismo, que la infección por el VRS carece de importancia como causa de neumonía crónica en el rastro. Sin embargo, las infecciones bacterianas por *Pasteurella multocida* y *Mannheimia haemolytica* si alcanzan a mantenerse activas en los pulmones de animales que llegan a rastro, aparentemente sanos. Además habría que establecer metafilaxia en la recepción del ganado en corral y en segundo lugar la necesidad de realizar estudios post mortem aplicando los conocimientos en la técnica de necropsias y la aplicación de los conocimientos para clasificar las lesiones neumónicas. La necesidad de corregir los procedimientos de insensibilización en rastro para disminuir las pérdidas derivadas en los errores durante el proceso y finalmente realizar un estudio posterior para comprobar o descartar la asociación entre lesiones neumónicas, particularmente neumonías intersticiales y rumenitis por acidosis.

6. Conclusiones

En este trabajo se demuestra que la adscripción de terminología basada en anatomía patológica es precisa y supera para propósitos de auditoría y retroalimentación del proceso a la tradicional asignación de terminología sindrómica. Se ha demostrado aquí, que las lesiones de mayor importancia que causa decomiso en los rastros de bovinos de corral de engorda es la pleuritis. Todas ellas tuvieron correspondencia histopatológica con neumonía intersticial, inclusive algunas con lesiones crónicas (Se incluyeron en grupo 2 lesiones como No

bronconeumónicas). Estas lesiones pulmonares que fueron las más frecuentes (adherencias en términos de diagnóstico sindrómico y pleuritis correspondiente a neumonía intersticial). Las segundas en importancia (grupo 3) se deben a imprecisiones en el proceso de insensibilización en el rastro y causan broncoaspiración y hemorragias. Estas fallas deberán corregirse con entrenamiento del personal durante el sacrificio en el rastro. En tanto que las lesiones del grupo 1 bronconeumonías supurativa crónicas y las bronquitis mucopurulentas, que son efectivamente representativas del CRB, tal como se confirmó en histopatología, no fueron las lesiones más importantes, sino las terceras en orden de frecuencia como causa de decomiso, son las que deben corregirse en la engorda.

7. REFERENCIAS.

Abbas, A., Lichtman, A., & Pillai, S. (2007). *Mycoplasmas Cellular and molecular immunology* (pp. 171-172). Philadelphia: Saunders Elsevier.

Alton, G. D., Pearl, D. L., Bateman, K. G., McNab, B. W. a., & Berke, O. (2012). Suitability of bovine portion condemnations at provincially-inspected abattoirs in Ontario Canada for food animal syndromic surveillance. *BMC Veterinary Research*. 8(88), 1-13.

Arcangioli, M., Duet, A., Meyer, G., Dernburg, A., Bézille, P., Poumarat, F., & Le Grand, D. (2008). The role of *Mycoplasma bovis* in bovine respiratory disease outbreaks in veal calf feedlots. *The Veterinary Journal*. 177(1), 89-93.

Azizi, S., Korani, F., & Oryan, A. (2013). Pneumonia in slaughtered sheep in south-western Iran: pathological characteristics and aerobic bacterial aetiology. *Veterinaria Italiana*. 49(1), 109-118.

Ball, H. J. & Nicholas, R. A. (2010). *Mycoplasma bovis*-associated disease: here, there and everywhere. *The Veterinary Journal*. 186(3), 280-281.

Barrow, G.I. & Feltham, R.K.A. (2003). *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria*. United Kingdom: Cambridge University Press.

Campuzano Ocampo, V. M., González Rodríguez, A. D., Hernández Castro, R., Suárez Güemes, F., Trigo Tavera, F. J., & Jaramillo Arango, C. J. (2011). Caracterización fenotípica y molecular de cepas de *Pasteurella multocida* aisladas de exudado nasal de bovinos, en dos cuencas lecheras de México. *Veterinaria México*. 42 (1), 1-10.

Carter, G., & Wise, D. (2004). *Essentials of Bacteriology and Mycology*. United States: Hoboken: Blackwell Publishing.

Caswell, J., & Williams, K. (2007). Respiratory System. Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals (Vol. 1, pp. 529-530). United States: Saunders Ltd.

Chambaud, I., Wróblewski, H., & Blanchard, A. (1999). Interactions between *Mycoplasma* lipoproteins and the host immune system. *Trends Microbio.* 7(12), 493-499.

Citti, C., & Blanchard, A. (2013). Mycoplasmas and their host: emerging and re-emerging minimal pathogens. *Trends in Microbiology*, 21(4), 196-203.

Cruz, G. G., Lara, L. L., Fresán, M. U. A., Jiménez, R. M. O., & Rosas, P. F. (2010). Evaluación de la capacidad inmunogénica y protectora de antígenos de *Pasteurella multocida*, obtenidos de aislados de casos clínicos. *Veterinaria México*, 41(2), 101-110.

Dupuy, C., Mornnat, E., Maugey, X., Vinard, J. L., Hendrikx, P., Ducrot, C., & Gay, E. (2013). Defining syndromes using cattle meat inspection data for syndromic surveillance purposes: a statistical approach with the 2005-2010 data from ten French slaughterhouses. *BMC Vet Res*, 9, 88.

Gabinaitiene, A., Siugzdaite, J., & Zilinskas, H. (2011). Laboratory diagnosis of *Mycoplasma* infection in young cattle. *Pol J Vet Sci*, 14(1), 87-93.

Gagea, M. I., Bateman, K. G., Shanahan, R. A., van Dreumel, T., McEwen, B. J., Carman, S., & Caswell, J. L. (2006). Naturally occurring *Mycoplasma bovis*-associated pneumonia and polyarthritis in feedlot beef calves. *J Vet Diagn Invest*, 18(1), 29-40.

Griffin, D. (1997). Economic impact associated with respiratory disease in beef cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 13(3), 367-77.

Gyles, C. L., Prescott, J.F., Songer, G., & Thoen C. O. (2010). Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals (4th Edition ed., pp. 325-565). United States: Wiley-Blackwell.

Harlow, E. & Lane, D. (1999). Using Antibodies a Laboratory Manual. United States: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Heffess, C. S. & Mullick, F. G. (1992). Métodos Histotecnológicos. Estados Unidos: Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América.

Hermeyer, K., Buchenau, I., Thomasmeyer, A., Baum, B., Spargser, J., Rosengarten, R., & Hewicker-Trautwein, M. (2012). Chronic pneumonia in calves after experimental infection with *Mycoplasma bovis* strain 1067: characterization of lung pathology, persistence of variable surface protein antigens and local immune response. *Acta Vet Scand*, 54(1), 9.

Jaramillo-Arango, C. J., Tavera, F. J. T., & Suárez-Güemes, F. (2009). Mannheimiosis bovina: etiología, prevención y control. *Veterinaria México*, 40(3), 293-314.

Koneman, E. W., Winn, W. C., Allen, S. D., Janda, W. M., Procop, G. W., Schreckenberger, P. C., & Woods, G. L. (2008). *Koneman Diagnóstico Microbiológico*. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.

Kundel H.L. & Polansky M. (2003). Measurement of observer agreement. *Radiology*, 228, 303-308.

Lackech E., Melaku, A., & Birhanu, A. (2012). Bovine Tuberculosis Prevalence in Slaughtered Cattle at Akaki Municipal Abattoir, Based on Meat Inspection Methods. *Global Veterinaria*, 9(5), 541-545.

Maeda T., Shibahara T., Kimura K., Wada Y., Sato K., Imada Y., Ishikawa Y. & Kadota K. 2003. *Mycoplasma bovis*-associated suppurative otitis media and pneumonia in bull calves. *J. Comp. Pathol.* 129:100-110.

Maunsell, F. P., Woolums, A. R., Francoz, D., Rosenbusch, R. F., Step, D. L., Wilson, D. J., & Janzen, E. D. (2011). *Mycoplasma bovis* infections in cattle. *J Vet Intern Med*, 25(4), 772-783.

McAuliffe, L., Ellis, R. J., Miles, K., Ayling, R. D., & Nicholas, R. A. (2006). Biofilm formation by mycoplasma species and its role in environmental persistence and survival. *Microbiology*, 152(Pt 4), 913-922.

McGavin, M. D. & Zachary, J. F. (2012). Respiratory System. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*(463-500). United States: Mosby.

Nicholas, R. A. J., & Ayling, R. D. (2003). *Mycoplasma bovis*: disease, diagnosis, and control. *Research in Veterinary Science*, 74(2), 105-112.

Nussbaum, S., Lysnyansky, I., Sachse, K., Levisohn, S., & Yogev, D. (2002). Extended repertoire of genes encoding variable surface lipoproteins in *Mycoplasma bovis* strains. *Infect Immun*, 70(4), 2220-2225.

Perez, J., Suárez, F., & Flores, R. (1990). *Bacteriología General Principios Químico Biológicos*. México, DF: Universidad Nacional Autónoma de México.

Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., FitzPatrick, E. S., Fanning, S., & Hartigan, P. J. (2011). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. United States: Wiley-Blackwell.

Radaelli, E., Luini, M., Loria, G. R., Nicholas, R. A. J., & Scanziani, E. (2008). Bacteriological, serological, pathological and immunohistochemical studies of *Mycoplasma bovis* respiratory infection in veal calves and adult cattle at slaughter. *Research in Veterinary Science*, 85 (2), 282–290.

Radaelli, E., Castiglioni, V., Losa, M., Benedetti, V., Piccinini, R., Nicholas, R. A., & Luini, M. (2011). Outbreak of bovine clinical mastitis caused by *Mycoplasma bovis* in a North Italian herd. *Res Vet Sci*, 91(2), 251-253.

Ramírez-Romero, R., Chavarría- Martínez, B., Lopez-Mayagoitia, A., Rodríguez-Tovar, L. E. & Nevárez-Garza, A. M. (2012). Presence of bovine virus diarrhoea in association of other pathologies in feedlot cattle. *Veterinaria México*, 43(3), 225-233.

Ramírez-Romero, R., Chavarría-Martínez, B., Nevárez-Garza, A. M., Rodríguez-Tovar, L. E., Dávila-Martínez, C., Hernández-Vidal, G., Hernández-Escareño, J. J. & López-Mayagoitia, A. (2010). Demostración inmunohistoquímica de *Mycoplasma bovis* en lesiones neumónicas crónicas en ganado en corral de engorda. *Veterinaria México*, 41, 289-296.

Ramírez-Romero, R., & Brogden, K. A. (2000). The potential role of the Arthus and Shwartzman reactions in the pathogenesis of pneumonic pasteurellosis. *Inflammation Research*, 49, 98-101.

Ramírez-Romero, R., Brogden, K. A., Gallup, J. M., Sonea, I. M., & Ackermann, M. R. (2001). Mast cell density and substance P-like immunoreactivity during the initiation and progression of lung lesions in ovine *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* pneumonia. *Microbial Pathogenesis*, 30, 325-335.

Ramírez-Romero, R., & Ramírez-Hernández, C. (2014). *Primer Simposio sobre Bienestar Animal*. Paper presented at the Enfermedades Respiratorias de los Bovinos en Corral de Engorda, Monterrey, Nuevo León.

Rifatbegovic, M., Assuncao, P., Pasic, S., de la Fe, C., & Poveda, J. B. (2009). Protein and Antigenic Profile among *Mycoplasma bovis* Field Strains Isolated in Bosnia and Herzegovina. *Acta Veterinaria Brno*, 151-154.

Ríos Rincón F.G. Estrada Angulo A. Hernández Bautista J. Pérez Linares C. Portillo Loera J.J. Robles Estrada J.C. (2012). Factores que influyen en la emesis post aturdimiento en bovinos. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 3 (3), 343-356.

Sachse, K., Grajetzki, C., Rosengarten, R., Hänel, I., Heller, M., & Pfützner, H. (1996). Mechanisms and factors involved in *Mycoplasma bovis* adhesion to host cells. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 284 (1), 80-92.

Sasaki, T., Shintani, M., & Kihara, K. (1984). Inhibition of growth of mammalian cell cultures by extracts of arginine-utilizing Mycoplasmas. *In Vitro*, 369–375.

Scanlan, C. M. (1991). *Introducción a la Bacteriología Veterinaria*. Zaragoza: Acribia.

Schlegel, H. G., & Zaborosch, C. (1997). *Microbiología General*. Barcelona: Ediciones Omega.

Schneider, M. J., Tait, R. G., Busby, W. D., & Reecy, J. M. (2009). An evaluation of bovine respiratory disease complex in feedlot cattle: Impact on performance and carcass traits using treatment records and lung lesion scores. *J Anim Sci*, 87(5), 1821-1827.

Schneider, M. J., Tait, R. G., Ruble, M. V., Busby, W. D., & Reecy, J. M. (2010). Evaluation of fixed sources of variation and estimation of genetic parameters for incidence of bovine respiratory disease in preweaned calves and feedlot cattle. *J Anim Sci*, 88(4), 1220-1228.

Solís-Calderón, S. C., Segura-Correa, J. C., Aguilar-Romero, F., & Segura-Correa, V. M. (2008).

Prevalencia de anticuerpos contra *Histophilus somni* y factores de riesgo en ganado para carne en Yucatán, México. *Veterinaria México*, 39(1), 29-38.

Taylor, J. D., Fulton, R. W., Lehenbauer, T. W., Step, D. L., & Confer, A. W. (2010a). The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors? *Can Vet J*, 51(10), 1095-1102.

Taylor, J. D., Fulton, R. W., Lehenbauer, T. W., Step, D. L., & Confer, A. W. (2010b). The epidemiology of bovine respiratory disease: what is the evidence for preventive measures? *Can Vet J*, 51(12), 1351-1359.

Thomas, A., Sachse, K., Dizier, I., Grajetzki, C., Farnir, F., Mainil, J. G., & Linden, A. (2003a). Adherence to various host cell lines of *Mycoplasma bovis* strains differing in pathogenic and cultural features. *Vet Microbiol*, 91(2-3), 101-113.

Thomas, A., Sachse, K., Farnir, F., Dizier, I., Mainil, J., & Linden, A. (2003b). Adherence of *Mycoplasma bovis* to bovine bronchial epithelial cells. *Microb Pathog*, 34(3), 141-148.

Thompson, P. N., Stone, A., & Schultheiss, W. A. (2006). Use of treatment records and lung lesion scoring to estimate the effect of respiratory disease on growth during early and late finishing periods in South African feedlot cattle. *J Anim Sci*, 84(2), 488-498.

Vanden Bush, T., & Rosenbusch, R. (2003). Characterization of the immune response to *Mycoplasma bovis* lung infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 23-33.

Villegas Vázquez, A. L., Campuzano-Ocampo, V. M., Hernández-Castro, R., Suárez-Güemes, F., Trigo Tavera, F. J., & Jaramillo-Arango, C. J. (2014). Caracterización de los tipos capsulares de *Pasteurella multocida* en exudado faríngeo de bovinos productores de carne clínicamente sanos en el estado de Querétaro. *Veterinaria México*, 19-28.